

CARLA SOFIA ESTÊVÃO DOS SANTOS SILVA

**PLANTAS UTILIZADAS COMO CHÁS COM
PROPRIEDADES ANTI-INFLAMATÓRIAS E
ANTIOXIDANTES**

Orientadora: Professora Doutora Fátima Frazão

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Ciências da Saúde

Lisboa

2012

CARLA SOFIA ESTÊVÃO DOS SANTOS SILVA

**PLANTAS UTILIZADAS COMO CHÁS COM
PROPRIEDADES ANTI-INFLAMATÓRIAS E
ANTIOXIDANTES**

Monografia apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas no curso de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Orientadora: Professora Doutora Maria de Fátima Frazão

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Ciências da Saúde

Lisboa

2012

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais pelo apoio, pelo amor incondicional, pelas orações, e por acreditarem em mim.

Agradeço também à minha orientadora Profa. Dra. Fátima Frazão, pelo apoio e pelas orientações.

Muito obrigada aos meus amigos, que sempre torceram por mim e estiveram comigo em todos os bons e maus momentos: Andreia Medeiros, Helena Manso, Inês Mendes, Vanda Lopes, Carolina Domingues, Tânia Silva, Ana Clara Duarte e Cláudia Lúcio e Marco Santos.

“Há uma força motriz mais poderosa que o vapor, a electricidade e a energia atómica:
a vontade”

(Albert Einstein)

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AA – ácido araquidónico

Cl⁻ – Iões cloreto

COX – Enzima cicloxigenase

ECA – Enzima conversora de angiotensina

eNOS – Sintase endotelial do óxido nítrico

EROS – Espécies reactivas de oxigénio

Fe²⁺ – Catião metálico ferro (II)

F.P. VII – Farmacopeia Portuguesa VII

HO₂• – Hidroperóxil

H₂O₂ – Peróxido de hidrogénio

HOCl – Ácido hipocloroso

IC₅₀ – concentração inibitória (*inhibitory concentration*) correspondente a 50% de inibição

IL-1 – Interleucina 1

iNOS – Óxido nítrico sintase induzida

K⁺ – Catião potássio

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade

LTB₄ – Leucotrieno B₄

LOX – Enzima lipoxigenase

MCP-1 – Proteína quimioattractiva de monócitos

MDA – Malonaldeído

NADPH – Nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato oxidase

Ni²⁺ – Catião metálico níquel (II)

NO – Óxido Nítrico

NOS – NO-sintase

NYHA – New York Heart Association

O₂ – Oxigénio

O₂⁻ – Anião superóxido

O₂^{•-} – Radical superóxido

OH[•] – Radical hidroxil

OMS- Organização Mundial de Saúde

ONOO⁻ – Peroxinitrito

PAF-acéter – Factor activador de plaquetas

PGs – Prostaglandinas

PGE₂ – Prostaglandina E2

PGD₂ – Prostaglandina D2

PGF_{2a} – Prostaglandina F2a

PGI₂ – Prostaglandina I2 ou prostaciclina

PLA₄ – Enzima fosfolipase A₄

SAR – Relação estrutura-actividade

TNF – Factor de necrose tumoral

TXA₂-Tromboxano A2

Zn²⁺ – Catião zinco (II)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura geral e padrão de numeração dos flavonóides
Figura 2	Exemplos de ligações glicosídicas localizadas nas posições 3 ou 7.
Figura 3	Forma glicosilada da quercitina à esquerda e quercetina (aglicona) à direita.
Figura 4	Estrutura química da rutina
Figura 5	Estrutura química do caempferol (aglicona)
Figura 6	Estrutura química da quercetina.
Figura 7	Estrutura química da miricetina
Figura 8	Estrutura química geral das antocianidinas `esquerda e à direita um exemplo de uma proantocianidina
Figura 9	Estrutura química da hesperidina à esquerda e à direita a estrutura química da naringina
Figura 10	Possíveis locais de ligação de iões metálicos (Mn+) aos flavonóides (a negrito).
Figura 11	Exemplo da deslocalização do electrão desemparelhado na quercetina.
Figura 12	Mecanismo geral da acção antioxidante dos flavonóides.
Figura 13	Características estruturais dos flavonóides responsáveis pela captação efectiva de radicais livres (a negrito).
Figura 14	Estrutura química da miricetina e da quercetina.
Figura 15	Estrutura da (+)-catequina à esquerda e taxifolina à direita
Figura 16	Estrutura química do caempferol (aglicona)
Figura 17	Características estruturais importantes dos flavonóides na captação de HOCl (a negrito)
Figura 18	Cascata do ácido araquidónico
Figura 19	Relação estrutura-actividade entre quercetina e seus análogos estruturais
Figura 20	Requisitos estruturais observados para actividade anti-inflamatória de flavonóides.
Figura 21	Ginkgo biloba
Figura 22	Pilriteiro, <i>Crataegus oxyacantha</i>
Figura 23	Agripalma, <i>Leonurus cardíaca</i> L
Figura 24	Cavalinha, <i>Equisetum arvense</i>
Figura 25	<i>Orthosiphon stamineus</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – subclasses de Flavonóides, as suas características químicas, nome de flavonóides e exemplos de estruturas.

Tabela 2 – posição dos substituintes na estrutura básica de alguns representantes das subclasses de flavonóides. Os números 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 3', 4' 5' e 6' indicam a posição dos substituintes na estrutura fundamental dos flavonóides (Figura 1)

Tabela 3 – Alguns flavonóides e seus respectivos alvos farmacológicos no processo inflamatório

RESUMO

As plantas foram os primeiros recursos utilizados pelos povos como parte integral da fitoterapia.

A fitoterapia, etimologicamente deriva dos termos gregos *therapeia* (tratamento) e *phyton* (vegetal). Significa o estudo de plantas consideradas medicinais e da sua aplicação no tratamento de doenças.

Com o passar dos anos o uso das plantas como agentes terapêuticos, contribuiu muito para o desenvolvimento de novos fármacos pelo que, tornou-se imprescindível conhecer os seus princípios activos, os mecanismos de acção subjacentes, os efeitos secundários e as possíveis interacções com os fármacos para que pudessem ser empregues de forma segura no complemento de terapias convencionais.

Muitos metabolitos secundários [flavonóides] derivados de plantas são conhecidos por possuírem importantes actividades farmacológicas ao actuarem sobre o sistema biológico como antioxidantes e anti-inflamatórios.

Os flavonóides estão amplamente distribuídos nas plantas como produto do seu metabolismo. Entre as diversas actividades biológicas atribuídas a estes metabolitos destacam-se as actividades antioxidantes e anti-inflamatórias, abordadas nesta monografia.

Este trabalho pretende rever os extractos naturais, que contenham flavonóides com acção antioxidante e anti-inflamatória em patologias cardiovasculares e geniturinárias. Estas populações foram escolhidas pelo facto das doenças cardiovasculares serem a principal causa de morte na União Europeia, e devido à importância das doenças do trato geniturinário terem aumentado muito na medicina clínica, pois essa é uma área essencial para a compreensão de muitas doenças. Torna-se importante o enfoque de algumas dessas doenças através do presente trabalho, numa tentativa de ampliar o conhecimento sobre o assunto.

Embora existam muitos estudos nesta área apenas serão consultados estudos que refiram um efeito bem documentado da acção terapêutica dos flavonóides.

Palavras-chave: Flavonóides, anti-inflamatórios, antioxidantes

ABSTRAT

Plants were the first source used by people for phytotherapy purposes.

The word phytotherapy come from the greek therapeia (treatment) and phyton (vegetable).

It mostly consists of the study of medicinal plants and the way its used to treatment of several diseases.

Along the years the use of plants as therapeutically agents significantly contributed to the development of new pharmaceutical substances. For this reason, it became crucial to know its active components and underlying action mechanisms, secondary effects and potential interactions with other pharmaceutical substances in order to be used in a safe and effective manner for conventional therapies.

Several secondary metabolites [flavonoids] derived from plants usually known to have relevant pharmaceutical impacts acting as anti oxidants and anti inflammatory on the biological system.

The flavonoids are basically plant metabolites. Within many of its beneficial effects, the most relevant are anti oxidant and anti inflammatory as mentioned in this study.

This paper aims to review the natural extracts containing flavonoids with antioxidant activity and anti-inflammatory genitourinary and cardiovascular action on pathologies. These populations were chosen because cardiovascular diseases are the leading cause of death in the European Union, and because of the importance of diseases of the genitourinary tract nowadays in clinical medicine, since this is a key area for understanding many diseases. It is important the focus of some of these diseases through the present work, an attempt to expand knowledge on the subject.

Although there are many studies in this area only well documented studies of the therapeutic action of flavonoids will be dicussed in this monography.

Key words: Flavonoids, anti inflammatory and anti oxidants

INDICE

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	Pag. III
LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE TABELAS	VI
RESUMO	VII
ABSTRAT	VIII
INDICE	IX
INDICE DE FIGURAS	X
INDICE DE TABELAS	XI
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Flavonóides	1
1.1.1. Descrição	1
1.1.2. Estrutura e classificação	1
1.1.3. Absorção, Metabolismo e Excreção	6
1.2 Principais flavonóides e as suas aplicações gerais	7
1.3. Mecanismo de acção dos flavonóides	11
1.3.1. Acção antioxidante. Relação estrutura/actividade antioxidante	11
1.3.1.1 Acção antioxidante com espécies oxidantes não radicalares	16
1.3.2. Acção anti-inflamatória	16
1.3.2.1. Mediadores do processo inflamatório	16
a) Metabólitos do ácido araquidónico	16
b) Óxido Nítrico (NO)	18
c) Citocinas	
1.3.2.2 Alguns flavonóides com actividade anti-inflamatória	19
1.3.3. Flavonóides: relação estrutura/actividade anti-inflamatória	21
2.Benefício dos flavonóides dos chás	23
2.1. Acção a nível cardiovascular	23
2.2. Acção a nível geniturinário	24
3. Flavonóides em plantas utilizadas como chás com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias a nível cardiovascular	25
3.1. Ginkgo biloba, <i>Ginkgo biloba</i> L.	25
3.2. Pirliteiro, <i>Crataegus oxyacantha</i>	27
3.3. Agripalma, <i>Leonurus cardíaca</i> L.	30
4. Flavonóides em plantas utilizadas como chás com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias no trato geniturinário	32
4.1. Cavalinha, <i>Equisetum arvense</i> L.	32
4.2. Chá-de-java, <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth.	33
5. DISCUSSÃO/CONCLUSÃO	37
6.REERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

INDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1	Estrutura geral e padrão de numeração dos flavonóides. 2
Figura 2	Exemplos de ligações glicosídicas localizadas nas posições 3 ou 7. 5
Figura 3	Forma glicosilada da quercetina à esquerda e quercetina (aglicona) à direita. 6
Figura 4	Estrutura química da rutina. 7
Figura 5	Estrutura química do caempferol (aglicona). 8
Figura 6	Estrutura química da quercetina. 8
Figura 7	Estrutura química da miricetina. 9
Figura 8	Estrutura química geral das antocianidinas `esquerda e à direita um exemplo de uma proantocianidina 10
Figura 9	Estrutura química da hesperidina à esquerda e à direita a estrutura química da naringina. 10
Figura 10	Possíveis locais de ligação de iões metálicos (Mn+) aos flavonóides (a negrito). 12
Figura 11	Exemplo da deslocalização do electrão desemparelhado na quercetina. 13
Figura 12	Mecanismo geral da acção antioxidante dos flavonóides. 13
Figura 13	Características estruturais dos flavonóides responsáveis pela captação efectiva de radicais livres (a negrito). 14
Figura 14	Estrutura química da miricetina e da quercetina. 14
Figura 15	Estrutura da (+)-catequina à esquerda e taxifolina à direita. 14
Figura 16	Estrutura química do caempferol (aglicona). 15
Figura 17	Características estruturais importantes dos flavonóides na captação de HOCl (a negrito). 16
Figura 18	Cascata do ácido araquidónico. 17
Figura 19	Relação estrutura-actividade entre quercetina e seus análogos estruturais. 21
Figura 20	Requisitos estruturais observados para actividade anti-inflamatória de flavonóides. 22
Figura 21	<i>Ginkgo biloba</i> 25
Figura 22	Pilriteiro, <i>Crataegus oxyacantha</i> 27
Figura 23	Agripalma, <i>Leonurus cardíaca</i> 30
Figura 24	Cavalinha, <i>Equisetum arvense</i> 32
Figura 25	<i>Orthosiphon stamineus</i> 34

INDICE DE TABELAS

	Pag.
Tabela 1 – Subclasses de Flavonóides, as suas características químicas, nome de flavonóides e exemplos de estruturas.	3
Tabela 2 – Posição dos substituintes na estrutura básica de alguns representantes das subclasses de flavonóides. Os números 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 3', 4' 5' e 6' indicam a posição dos substituintes na estrutura fundamental dos flavonóides (Figura 1).	4
Tabela 3 – Alguns flavonóides e seus respectivos alvos farmacológicos no processo inflamatório.	20

1.INTRODUÇÃO

1.1 Flavonóides

1.1.1 Descrição

O termo flavonóide (ou bioflavonóide) é a denominação dada a um grande grupo de metabolitos secundários encontrados em plantas.

Os flavonóides são uma classe de compostos naturais de considerável interesse científico e terapêutico. São compostos fenólicos que diferem entre si pela sua estrutura química e características particulares. São sintetizados a partir da via dos fenilpropanóides e do acetato. Esta ampla classe de substâncias de origem natural, cuja síntese não ocorre na espécie humana, está presente em todas as partes das plantas, desde as raízes até as flores e frutos, sendo encontradas nos vacúolos das células. A quercetina é o principal flavonóide presente na dieta humana.

Têm funções importantes no crescimento, desenvolvimento e na defesa das plantas contra o ataque de agentes patogênicos. ^[1]

Os flavonóides são um grupo de substâncias descobertas pelo Dr. Albert Szent-Gyorgyi, que ao isolar a rutina (um flavonóide) pensando que era mais um novo membro da família das vitaminas denominou-o como "vitamina P". ^[2]

As principais fontes de flavonóides são as frutas cítricas, onde são encontradas a quercitina, a hesperidina, a rutina, a naranjina e o limoneno, que são chamados citroflavonóides. Fontes importantes de flavonóides são o chá, os vegetais como os brócolos e a berinjela, o linho e os cereais integrais. ^[3]

Os flavonóides ajudam a aumentar os benefícios da vitamina C ao inibir a sua decomposição no organismo. No seu estado natural, os flavonóides costumam encontrar-se em associação estreita com a vitamina C devido á capacidade de potencialização que exercem um sobre o outro aumentando a sua eficácia. ^[4] De um modo geral todos os flavonóides são anti-inflamatórios, antioxidantes e antivirais. ^[4]

1.1.2 Estrutura e classificação

Estruturalmente, os flavonóides constituem substâncias aromáticas com quinze átomos de carbono (C_{15}) arranjados em três anéis ($C_6-C_3-C_6$). ^[2]

Os flavonóides podem ocorrer na sua forma livre (agliconas), ligados a açúcares (glicosídeos/heterosídeos) e também podem ocorrer como derivados metilados. ^[2]

Assim a combinação de um núcleo flavonóide como base + uma ou mais unidades de hidratos de carbono, são chamados de glicosídeos, e quando os flavonóides não estão ligados a um hidrato de carbono são chamados de agliconas de flavonóides. [5]

A aglicona é constituída por um anel de benzeno (A) condensado com um anel pirano (C). Na posição 2 do anel (C) existe um anel benzénico como substituinte (B) (posições referentes à figura 1). [6]

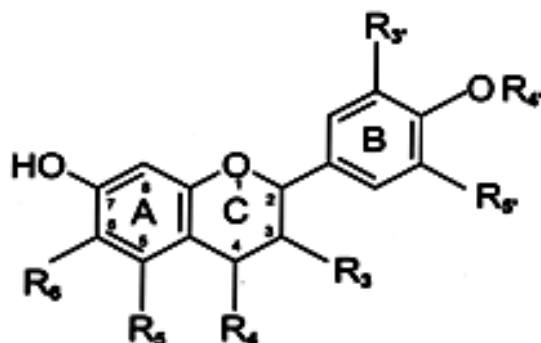


Figura 1 – Estrutura geral e padrão de numeração dos flavonóides. [7]

A posição do substituinte benzénico na posição 3, em vez da usual posição 2, divide a classe de flavonoides em isoflavonóides. [6]

Os flavonóides podem agrupar-se em 7 classes. O anel C pode ser um pirano heterocíclico (C₅H₆O) dando origem a:

- 1) flavanóis ou catequinas (sem ligações insaturadas no anel C)
- 2) e às antocianidinas (com 2 ligações duplas no anel C).

O anel C, também, pode ser uma pirona originando as restantes classes:

- 3) flavonóis (com 1 ligação dupla C₂=C₃ e um grupo 3-OH),
- 4) flavonas (com 1 ligação dupla C₂=C₃),
- 5) flavanonas (sem a dupla ligação C₂=C₃)

6) e isoflavonas (com 1 ligação dupla C₂=C₃ mas a ligação ao anel B é feita pelo C₃ do anel C). [8]

Mais recentemente supõe-se haver uma nova classe, a dos neoflavonóides, cujo anel C é uma pirona, onde o grupo carbonilo (C=O) está no carbono 2 em vez de estar no carbono 4, a dupla ligação é entre C₃=C₄ e a ligação ao anel B faz-se através do carbono 4 do anel C (posições referentes à figura 1). [6]

Os grupos principais de flavonóides são listados na Tabela 1, em conjunto com os membros mais conhecidos de cada grupo, a estrutura molecular da cada de flavonóide é apresentado na Tabela 2. [2]

Tabela 1-Subclasses de Flavonóides, as suas características químicas, nome de flavonóides e exemplos da estrutura base.^[2]

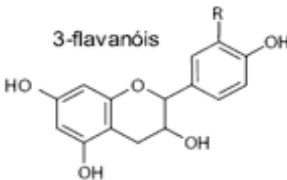
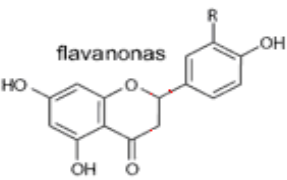
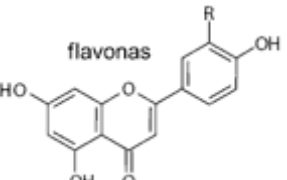
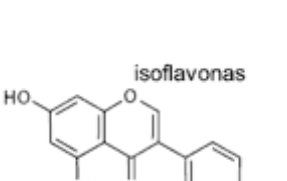
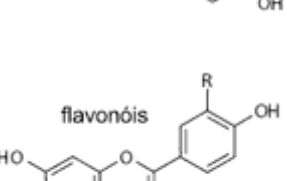
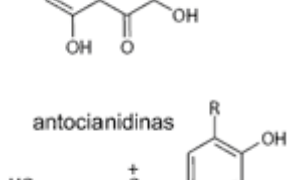
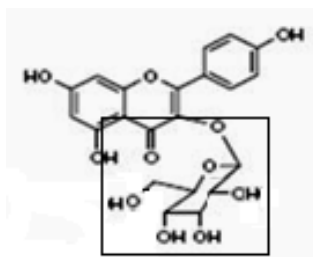
Classes de flavonóides	Anel C insaturado	Grupo funcional no anel C	Exemplos de flavonóides	Estrutura química
Flavanas/Flavanóis ou catequinas	Nenhum	3-hidroxi 3-O-galato	Catequina Epicatequina Luteoforol Procianidina Theaflavina	 <p>3-flavanóis</p>
Flavanonas	Nenhum	4-oxo	Hesperidina Naringenina	 <p>flavanonas</p>
Flavonas	2-3 ligação dupla	4-oxo	Apigenina Luteolina Diosmetina Tangeretina Nobiletina	 <p>flavonas</p>
Isoflavonas	2-3 ligação dupla	4-oxo	Daidzeína Genisteína	 <p>isoflavonas</p>
Flavonois	1-2, 3-4 ligação dupla	3-hidroxi 4-oxo	Isoarmnetina Caemferol Quercetol Quercetina Rutina Mircetina	 <p>flavonóis</p>
Antocianidinas	2-3 ligação dupla	3-hidroxi	Cianidina Delinidina Peonidina	 <p>antocianidinas</p>

Tabela 2 – Posição dos substituintes na estrutura básica de alguns representantes das subclasses de flavonóides. *Os números 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 3', 4' 5' e 6' indicam a posição dos substituintes na estrutura fundamental dos flavonóides (Figura 1). ^[1]

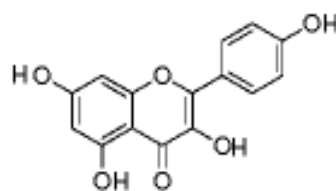
FLAVONÓIDES	POSIÇÃO DOS SUBSTITUINTES NA ESTRUTURA BÁSICA DOS FLAVONÓIDES *					
	3	5	7	3'	4'	5'
<i>Antocianidinas</i>						
Cianidina	OH	OH	OH	OH	OH	OH
Delfinidina	H	H	H	OH	H	OH
Malvidina	H	H	H	O-Me	H	O-Me
Pelargonidina	OH	OH	OH	OH	H	H
Peonidina	H	H	H	O-Me	H	OH
<i>Flavanols</i>						
(+) – Catequina	H	OH	H	OH	OH	H
<i>Flavanona</i>						
Naringenina	H	OH	OH	H	OH	H
Naringina	H	OH	O-Ru	H	OH	H
Hesperedina	H	OH	O-Ru	OH	O-Me	H
<i>Flavonas</i>						
Apigenina	H	OH	OH	H	OH	H
Crisina	H	OH	OH	H	H	H
Diosmina	H	OH	O-Ru	OH	O-Me	H
<i>Flavonóis</i>						
Quercetina	OH	OH	OH	H	OH	H
Canferol	H	OH	OH	H	OH	H
Miricetina	H	OH	OH	OH	OH	OH
<i>Isoflavonóides</i>						
Daidzeína	H	H	OH	H	OH	H
Genisteína	H	OH	OH	H	OH	H

Os flavonóides são frequentemente hidroxilados nas posições 3, 5, 7, 2', 3', 4', 5'. A ligação glicosídica é normalmente localizada na posição 3 ou 7 (posições

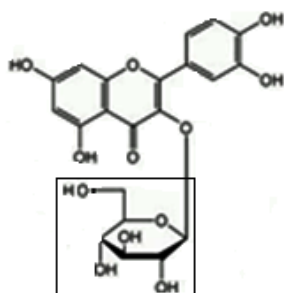
representadas na figura 1) e o hidrato de carbono pode ser L-rhamnose, D-glucose, glucor-hamnose, galactose ou arabinose (exemplos na Figura 2).^[6]



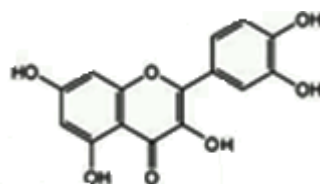
Caempferol glicosilado



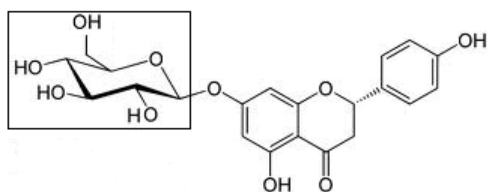
Caempferol aglicona



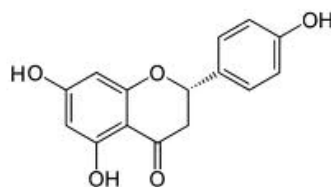
Quercetina – 3- glicosídeo



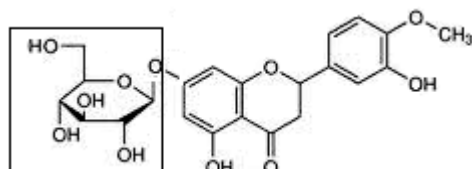
Quercetina (aglicona)



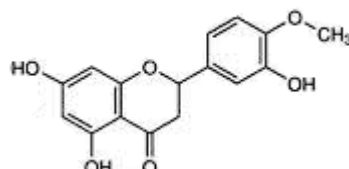
Naringenina-7-glicosídeo



Naringenina (aglicona)



Hesperetina-7-glicosídeo



Hesperetina (aglicona)

Figura 2 – Exemplos de ligações glicosídicas localizadas nas posições 3 ou 7.^[7]

1.1.3 Absorção, Metabolismo e Excreção

A estrutura dos flavonóides parece influenciar a taxa de absorção.

Os flavonóides são usualmente absorvidos por difusão passiva pelos enterócitos, após serem glicosilados e/ou convertidos em agliconas.^{[5][9]}

A posição e a natureza do resíduo de açúcar podem influenciar a absorção do composto no intestino delgado. Estudos sugerem que a forma glicosilada da quercetina é absorvida mais rapidamente que a forma de aglicona. No entanto a catequina é um exemplo de uma forma não glicosilada na natureza, mas que é efectivamente bem absorvida. Isto sugere que a informação da absorção, metabolismo, e excreção dos flavonóides em humanos seja um pouco contraditória.^{[5][9]}

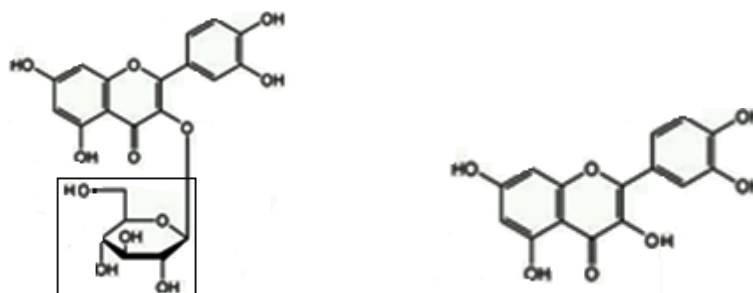


Figura 3 – Forma glicosilada da quercetina à esquerda e quercetina (aglicona) à direita.^[7]

Os flavonóides, na sua maioria, não são absorvidos sendo degradados por bactérias da microflora intestinal. Estas bactérias transformam os flavonóides em compostos fenólicos que podem ser reabsorvidos.^{[5][9]}

Os flavonóides absorvidos são ligados á albumina e transportados para o fígado no qual são conjugados. A conjugação pode ser feita pela adição de um grupo sulfato, um grupo metil ou ambos. A adição dos grupos conduz a uma maior eliminação e consequentemente a uma diminuição da toxicidade.^[5]

Existem vários locais na estrutura dos flavonóides onde é possível que ocorra a conjugação. O tipo de conjugação e a sua localização vão influenciar a capacidade inibitória das enzimas, a capacidade antioxidante ou ambas. No intestino delgado pela glucuronização, sulfatação ou metabolização os compostos tornam-se mais polares podendo ser eliminados na urina ou nas fezes.^{[5][9]}

1.2 Principais flavonóides e as suas aplicações gerais

A rutina (quercetina-3-rutinosídeo) é um flavonóide útil no tratamento/prevenção da insuficiência venosa crónica, no glaucoma, na rinite alérgica, nas hemorróidas, cirrose, gota, artrite entre outras. É útil para reduzir a debilidade dos vasos sanguíneos e as hemorragias daí resultantes. ^[10]

A rutina actua na bioquímica da via do ácido araquidónico de duas formas:

- pela inibição da acção dos leucotrienos, por inibição da lipoxigenase e pela inibição da síntese de prostaglandinas
- e através da inibição da prostaglandina sintetase e da ciclooxigenase.

Com o bloqueio da síntese de prostaglandinas ocorre a lipólise estimulada pelas catecolaminas e por hormonas lipolíticas e consequentemente a diminuição dos processos inflamatórios (por redução da histamina). Ocorre também uma acção vasoconstritora por bloqueio da síntese dos leucotrienos e uma diminuição da permeabilidade capilar. ^[10]

A rutina protege as estruturas vasculares da acção lesiva dos radicais livres, pois possui acção antilipoperoxidante, impedindo a oxigenação das gorduras e também aumenta a síntese de elastina e proteoglicanos, nas paredes dos vasos sanguíneos tornando-os mais resistentes. ^[10]

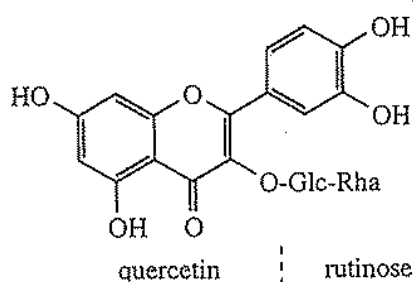


Figura 4 – Estrutura química da rutina. ^[11]

O caempferol é um flavonóide, comum em muitos vegetais, frutas e plantas. Vários estudos têm demonstrado existir uma correlação positiva entre o consumo de alimentos contendo o caempferol e a redução de desenvolvimento de várias doenças, muito particularmente das doenças cardiovasculares. O caempferol e vários dos seus glicósidos, tem uma larga atividade farmacológica, actuando principalmente como anti-oxidante e anti-inflamatório, acções estas benéficas na prevenção da aterosclerose e

consequentemente nas doenças cardiovasculares. A sua ação antioxidante sobre o colesterol é também muito importante, pois é o colesterol associado às LDL que é facilmente oxidado e na forma oxidada é um dos mecanismos prováveis na formação das placas de ateroma. O caempferol tem também ação sobre a agregação das plaquetas.^[12]

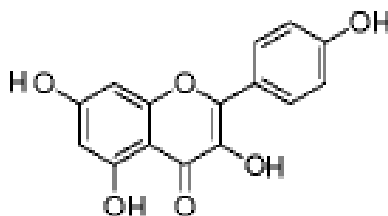


Figura 5 – Estrutura química do caempferol (aglicona).^[7]

O caempferol inibe a expressão do gene MCP-1 (Proteína quimioatrativa de monócitos). A MCP-1 é uma molécula importante para a etapa inicial da formação da placa aterosclerótica.^[12]

A Quercetina, elimina os radicais livres de oxigénio, inibe a xantina oxidase, e inibe a peroxidação lipídica *in vitro*. A quercetina apresenta também uma capacidade para inibir a oxidação do colesterol, *in vitro*, provavelmente por inibição da oxidação da LDL.^[13]

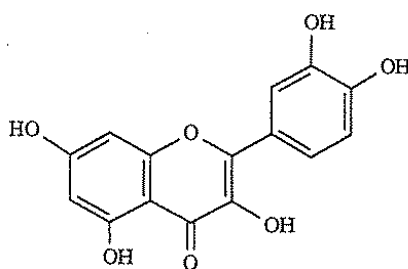


Figura 6 – Estrutura química da quercetina.^[14]

A actividade anti-inflamatória da quercetina parece ser devida às propriedades antioxidantes e aos efeitos inibitórios sobre as enzimas produzidas durante a inflamação (ciclo-oxigenase, lipoxigenase) e a subsequente inibição de mediadores inflamatórios, (incluindo os leucotrienos e prostaglandinas). A inibição da libertação de histamina por mastócitos e basófilos, também contribui para a actividade anti-inflamatória da quercetina.^[13]

Foi evidenciado que o flavonóide miricetina é eficaz na eliminação de radicais livres formados tanto por sistemas enzimáticos quer por não enzimáticos. A miricetina inibe a formação do malonaldeído (MDA) (é usado como um indicador não enzimático da peroxidação lipídica, é um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos gordos poliinsaturados) a partir do ácido araquidónico nos microsomas do fígado de ratos.^[15]

A miricetina também reduz o aumento da oxidação induzido pelo catião cálcio (Ca^{2+}). Os catiões divalentes como o Fe^{2+} , Zn^{2+} e Ni^{2+} podem induzir a oxidação lipídica nos peixes durante a sua confecção mas não no peixe cru. A peroxidação lipídica é reduzida quando o peixe é cozinhado na presença da miricetina.^[15]

A miricetina também demonstra capacidade para eliminar o anião superóxido (O_2^-) e o radical hidroxil ($\text{OH}\cdot$).^[15]

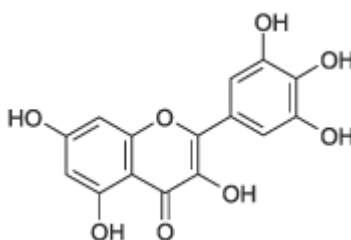


Figura 7 – Estrutura química da miricetina.^[16]

Estudos mostram que a miricetina é capaz de inibir a actividade da lipoxigenase no fígado de ratos quando o ácido araquidónico é usado como substrato.^[15]

Os flavonóides antocianinas e proantocianidinas (polímeros de antocianidinas ou taninos condensados) podem usar-se como adjuvantes no tratamento de diversas perturbações como cataratas, cegueira noturna, retinopatia diabética (doença progressiva da retina como complicação da diabetes) e degenerência macular (doença hereditária que causa a perda da visão). Também são úteis para reforçar a parede dos vasos sanguíneos e, por isso, podem ajudar a prevenir hematomas, hemorróidas e derrames sanguíneos. Ajudam também a prevenir a osteoporose ao estabilizar o colagénio, principal proteína do osso, assim como a reduzir os depósitos do colesterol nas artérias e prevenir a lesão das suas paredes. Devido a este facto, reduzem as probabilidades de doença coronária e acidente vascular cerebral. As antocianinas e as proantocianidinas podem dilatar os vasos sanguíneos prevenindo os coágulos sanguíneos. As proantocianidinas atravessam a barreira hematoencefálica e protegem o cérebro da lesão causada pelos radicais livres.^[4]

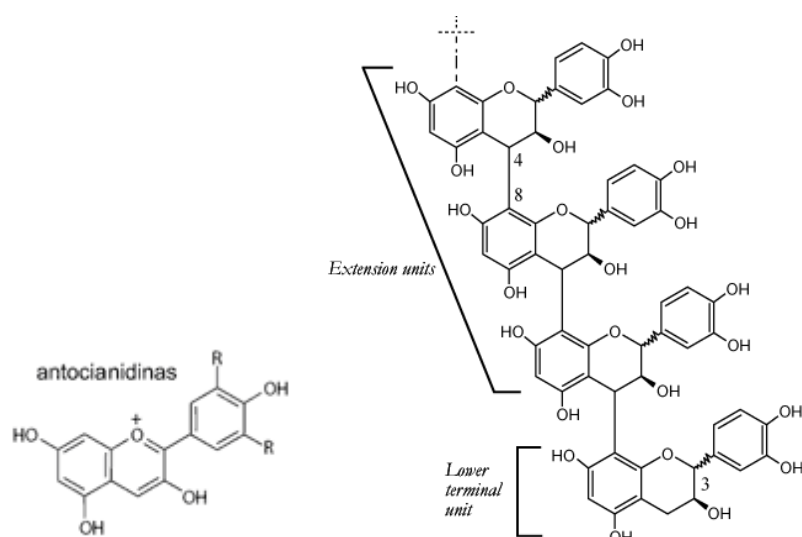


Figura 8 – Estrutura química geral das antocianidinas à esquerda e à direita um exemplo de uma proantocianidina. ^{[2][17]}

A flavanona hesperidina melhora os sintomas da menopausa, ajuda a reduzir o edema e bloqueia a liberação de histamina. A deficiência de hesperidina tem sido associada à debilidade das paredes dos vasos sanguíneos, dor e fraqueza nas mãos e nos pés e também a câibras nocturnas nas pernas. A naringina, também uma flavanona, pode travar a progressão da doença coronária e degenerescência visual na diabetes. É um anticoagulante potente. ^[4]

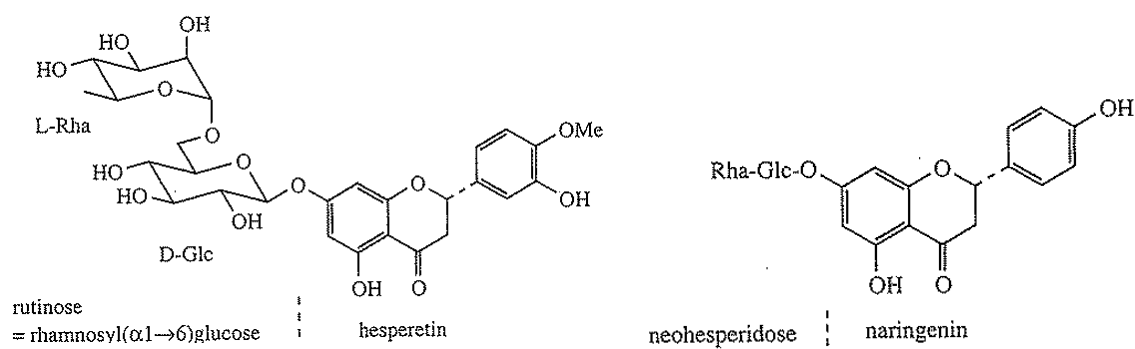


Figura 9 – Estrutura química da hesperidina à esquerda e à direita a estrutura química da naringina. ^[14]

1.3 Mecanismo de acção dos flavonóides

1.3.1 Acção antioxidante. Relação estrutura/actividade antioxidante

Antioxidantes são compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o início ou propagação das reacções de oxidação em cadeia.^[9]

O oxigénio actua em organismos aeróbios como aceitador final de electrões, o oxigénio envolvido neste processo respiratório é estável, mas em certas condições pode ser transformado em espécies que são responsáveis por danos celulares.^[9]

Os radicais livres e/ou espécies reactivas de oxigénio (EROS) são derivadas do metabolismo do oxigénio (O_2) e são geradas em sistemas *in vivo*. Durante o metabolismo celular aeróbio o O_2 sofre redução e ocorre formação de água (H_2O). No decorrer deste processo de redução surge a formação de intermediários reactivos como o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), o radical hidroxil ($HO\cdot$) e o hidroperoxil ($HO_2\cdot$).^[9]

O radical hidroxil é o mais reactivo da EROS com um tempo de semi-vida curto. Este radical é capaz de inactivar várias proteínas e iniciar a oxidação de ácidos gordos poliinsaturados das membranas celulares. O radical superóxido pode reagir como oxidante ou como redutor dando origem a outras espécies reactivas. O peróxido de hidrogénio como não apresenta electrões desemparelhados não é considerado um radical livre verdadeiro, no entanto participa em reacções que geram espécies reactivas. A ausência do electrão desemparelhado torna-o mais estável e capaz de atravessar camadas lipídicas, promovendo danos em alvos biológicos afastados do seu local de formação.^[9]

Generalizando, os antioxidantes são substâncias que podem atrasar ou inibir as taxas de oxigenação. Os antioxidantes podem ser directos, suprimindo directamente os efeitos dos radicais livres, podem ser enzimas antioxidantes, ou antioxidantes indirectos.^[18]

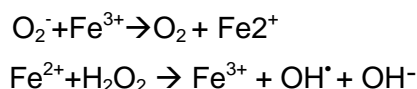
Os flavonóides são antioxidantes não enzimáticos que, em geral, possuem uma estrutura química ideal para conseguirem captar os radicais livres (O_2 , $O_2^{\cdot-}$, $\cdot NO$), espécies oxidantes não radicalares ($HOCl$ e $ONOO^-$) e quelar metais de transição como ferro (Fe^{2+}) e o cobre (Cu^{2+}). A estrutura química dos flavonóides vai influenciar a sua actividade antioxidante.^[18]

Os flavonóides podem actuar como antioxidantes através de vários mecanismos, tais como:

- Quelar metais de transição
- Captar radicais livres

- Reagir com espécies oxidantes não radicalares (ácido hipocloroso (HOCl) e peroxinitrito (ONOO-))
- Exercer efeitos sinérgicos com outros antioxidantes
- e interagir com as biomembranas biológicas. ^[18]

Os flavonóides sendo quelantes de metais promovem a reacção de oxidação/redução do Fe^{2+} e do Cu^{2+} . O Fe^{2+} e o Cu^{2+} participam na reacção de Fenton que origina radicais livres:^[16]



O radical hidroxilo (OH^\bullet) é prejudicial para o organismo, devido a sua semi-vida curta dificilmente pode ser sequestrado *in vivo*. A remoção de metais de transição livres no meio biológico é fundamental para a protecção antioxidante do organismo. ^[16]

Os flavonóides possuem três locais possíveis para a quelação de metais. Estes locais são (figura 10): ^[19]

- entre os grupos hidroxilo da estrutura *orto*-catecol do anel B
- entre o grupo 3-OH e o grupo 4-oxo
- e entre o grupo 5-OH e o grupo 4-oxo

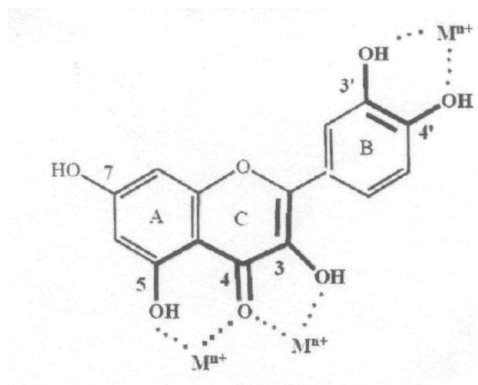
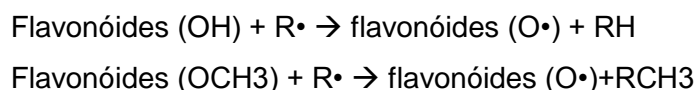


Figura 10 – Possíveis locais de ligação de íões metálicos (Mn^+) aos flavonóides (a negrito). ^[19]

Geralmente o maior número de substituintes OH no esqueleto básico do flavonóide (apresentado na figura 1) representa uma maior actividade como agente dador de H e de electrões. ^[16]

Devido a grande reactividade dos grupos hidroxilo dos flavonóides os radicais livres podem ser inactivados de acordo com a seguinte equação: ^[16]



onde o R^\bullet é o radical livre e o O^\bullet é o radical livre de oxigénio.

A estabilidade do radical flavonóide (flavanoil) formado depende da capacidade que o flavonóide tem para conseguir deslocar o radical livre. A figura 11 e a figura 12 mostram um exemplo da deslocalização do electrão desemparelhado.^[16]

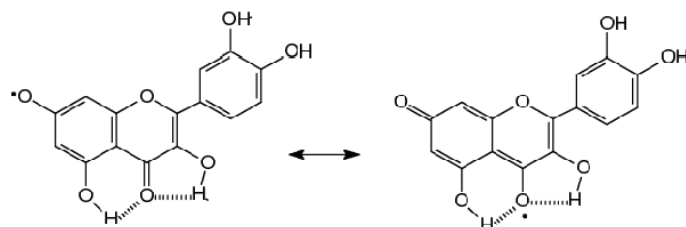


Figura 11 – Exemplo da deslocalização do electrão desemparelhado na quercetina.^[16]

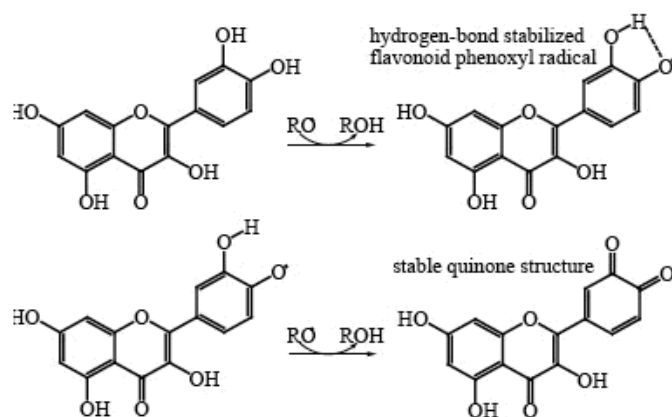


Figura 12 – Mecanismo geral da acção antioxidante dos flavonóides.^[20]

Os determinantes estruturais que favorecem a deslocalização dos electrões desemparelhados são:

- 1) a presença do grupo *orto*-catecol no anel B, o qual confere uma estabilidade elevada ao radical formado;
- 2) a conjugação do anel B ao grupo 4-oxo através da dupla ligação 2,3, que assegura a deslocalização da carga electrónica do anel B e
- 3) os grupos 3-OH e 5-OH com o grupo 4-oxo, que permite a deslocalização da carga electrónica para ambos os substituintes.^[19]

A doação do H^\bullet ocorre preferencialmente pela ordem das posições $7-OH > 4'-OH > 5-OH$ (as posições 7;4';5 são referentes á figura 1).^[16]

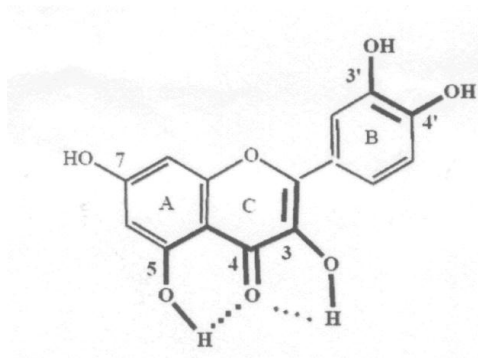


Figura 13 – Características estruturais dos flavonóides responsáveis pela captação efectiva de radicais livres (a negrito). ^[19]

Segundo este argumento, a flavona miricetina (3,5,7,3', 4',5'-OH) tem uma excelente capacidade para captar radicais livres sendo mais eficiente do que a quercetina (3,5,7,3',4'-OH) (figura 14). ^[19]

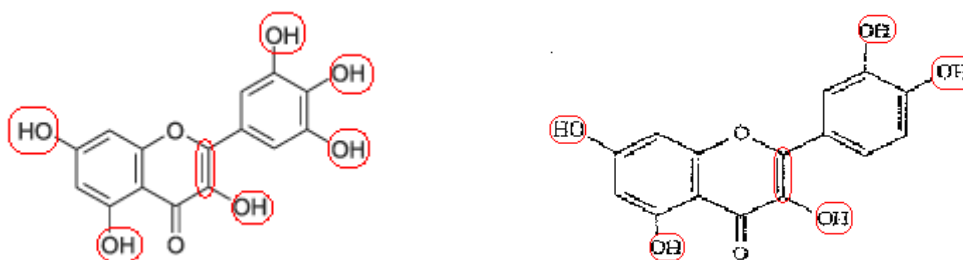


Figura 14 – Estrutura química da miricetina e da quercetina. ^[16]

Além disso, estudos relataram que a catequina e a taxifolina exibem uma capacidade antioxidante comparável à da quercetina contra os diferentes radicais. Estes flavonóides têm o mesmo padrão de hidroxilação da quercetina mas a catequina carece dupla ligação 2,3, (determinante 2) e da presença da ligação dos grupos 3-OH e 5-OH com o grupo 4-oxo (determinante 3), e a taxifolina carece da dupla ligação 2,3 (determinante 2). ^[21]

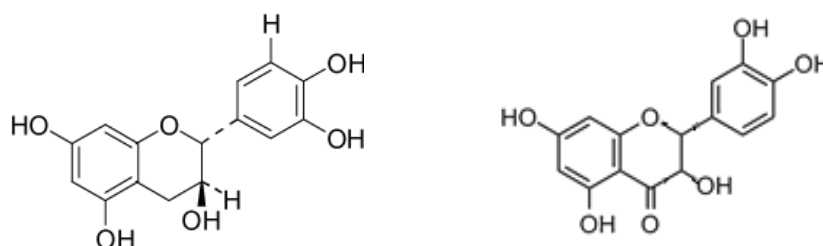


Figura 15 – Estrutura da (+)-catequina à esquerda e taxifolina à direita. ^[22]

Este comportamento está de acordo com a hipótese de Van Acker e colaboradores em que o anel B determina a actividade antioxidante enquanto que a estrutura de base tem apenas uma pequena influência. No entanto, o caempferol (3,5,7,4'-OH) (figura 16), apesar de não apresentar o grupo *orto*-catecol, também apresenta uma elevada actividade antioxidante. Parece que, por falta do grupo *orto*-catecol a actividade antioxidante não é perdida pois a dupla ligação 2,3 e o grupo 3-OH conferem também uma actividade antioxidante ao flavonóide. ^[19]

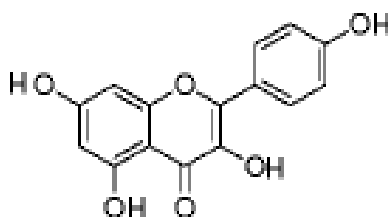


Figura 16 – Estrutura química do caempferol (aglicona)

A aglicona parece ter uma melhor acção antioxidante quando comparada ao flavonóide glicosilado. Isso porque, para uma óptima actividade antioxidante é necessário que a extremidade 3-OH do anel C esteja livre, o que não é observado nos O-glicosídeos, o que reduz a capacidade da molécula de neutralizar radicais livres. ^[25] Por ultimo, outro factor relevante para a actividade antioxidante dos flavonóides é a sua interacção com as biomembranas. A lipofilicidade do flavonóide indica a incorporação desse pela membrana, que é alvo da maioria das EROs. ^[16]

Na estrutura dos flavonóides pode haver uma cadeia de açúcares ligada o que torna o flavonóide muito polar. Essa polaridade vai impedir que os flavonóides sejam assimilados pela membrana podendo ser armazenados em vesículas, ocupando assim um maior tempo de permanência no organismo. Por outro lado os flavonóides que são retidos nas membranas desempenham uma função de moduladores de fluidez. Diminuindo a fluidez da membrana os flavonóides criam um impedimento físico para a difusão das EROs. ^[16]

1.3.1.1 Acção antioxidante com espécies oxidantes não radiculares

As características estruturais mais importantes nos flavonóides para a captação de peroxinitrito (ONOO^-) são as mesmas referidas para a captação de radicais, pois a nitracao envolve a formação de radicais.^[19]

Na captação de HOCl , o grupo *orto*-catecol não parece ser uma característica estrutural importante, ao contrário da dupla ligação $\text{C2} = \text{C3}$ e do grupo 3-OH no anel C. A dupla ligação $\text{C2} = \text{C3}$ confere maior rigidez ao anel C e permite que os anéis A e C permaneçam numa posição mais coplanar. O grupo 3-OH, por sua vez, interage com o anel B através de uma ponte de hidrogénio o que contribui ainda mais para que os anéis A, B e C estejam no mesmo plano. Estas condições permitem a redistribuição dos electrões conferindo uma maior estabilidade a molécula.^[21]

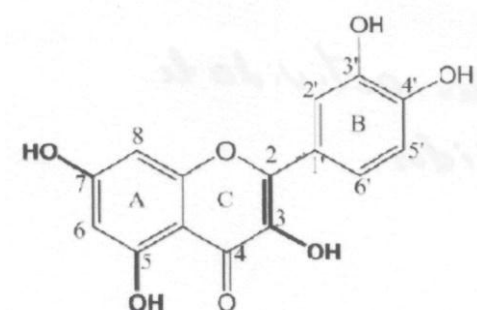


Figura 17- Características estruturais importantes dos flavonóides na captação de HOCl (a **negrito**).^[19]

1.3.2. Acção anti-inflamatória

1.3.2.1 Mediadores do processo inflamatório

a) Metabolitos do ácido araquidónico

O ácido araquidónico (AA) é um ácido gordo libertado a partir dos fosfolipídeos das membranas celulares através da fosfolipase A2, em resposta a estímulos mecânicos, químicos ou físicos e também por mediadores.

Os metabolitos do ácido araquidónico, denominados eicosanóides, são sintetizados por duas vias enzimáticas:^[25]

- a via das enzimas lipoxigenases (LOX), que resulta na formação de leucotrienos e lipoxinas,

- a via das enzimas cicloxigenases (COX), que leva à formação de prostaglandinas(PGs) e tromboxanos(TXA) (prostanoides)

Os prostanoides mais importantes na inflamação são: Prostaglandina E_2 (PGE_2), Prostaglandina D_2 (PGD_2), Prostaglandina F_2 (PGF_{2a}), Prostaglandina I_2 (PGI_2 ou prostaciclina) e o Tromboxano A_2 (TXA_2). O TXA_2 é um potente vasoconstritor e agregador plaquetário, o que explica o seu potencial para a formação de trombos.

A prostaciclina possui acção vasodilatadora, além de potencializar os efeitos quimiotáticos e aumentar a permeabilidade de outros mediadores. [23]

As prostaglandinas estão envolvidas na patogénese da dor e da febre, além de provocarem vasodilatação arteriolar e edema. Os anti-inflamatórios são administrados com o objectivo de controlar os sinais e sintomas exacerbados da resposta inflamatória, como o edema, a dor e a febre, e muitas vezes são utilizados prolongadamente em doenças crónicas de natureza inflamatória. [25]

Por sua vez, o LTB_4 é o principal leucotrieno envolvido no processo inflamatório. Exerce potente actividade quimiotática para leucócitos, eosinófilos e monócitos, promovendo a migração destes tipos celulares para o local afectado. Uma vez no sítio, os leucotrienos activam as células da série branca, promovendo a desgranulação e a produção de superóxidos, que contribuem para os danos teciduais característicos da inflamação. [23]

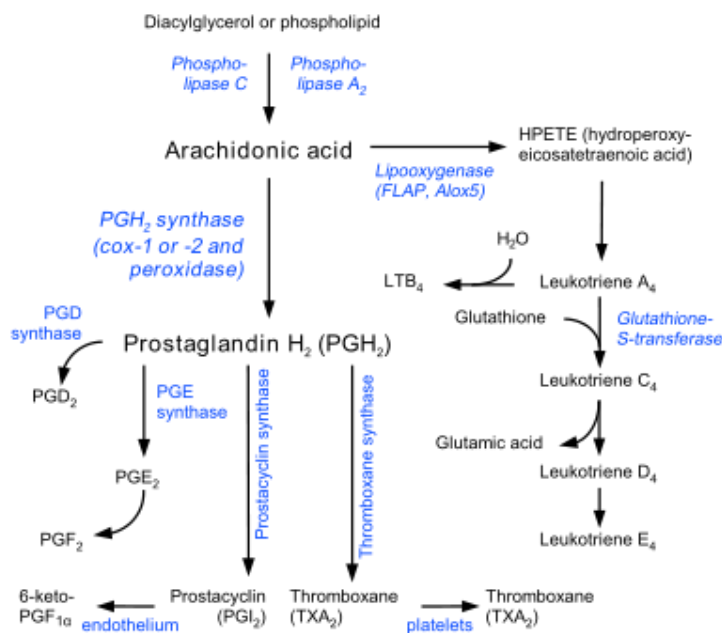


Figura 18 – Cascata do ácido araquidónico. [26]

b) Óxido Nítrico (NO)

O NO é um gás formado por acção da enzima NO-sintase (NOS) e é libertado no local da inflamação por células endoteliais e por macrófagos activados. O NO estimula directamente a enzima guanilato ciclase solúvel e a consequente formação de cGMP (monofosfato cíclico de guanosina) intracelular, resultando no relaxamento das células da musculatura lisa vascular. ^[27]

Existem três formas de NOS, duas denominadas constitutivas e dependentes do cálcio (cNOS), que são a endotelial e a neuronal, as quais sintetizam NO em condições normais, e a independente do cálcio (iNOS). A isoforma I ou óxido nítrico-sintase neuronal (nNOS) é uma NOS constitutiva. É cálcio-calmodulina dependente e regula a transmissão sináptica no sistema nervoso central (SNC), actua na regulação central da pressão sanguínea e no relaxamento do músculo liso. Também regula o fluxo sanguíneo cerebral local e está envolvida na formação da memória. ^[27]

A isoforma II ou óxido nítrico-sintase induzida (iNOS) é uma NOS induzida por citocinas e lipopolissacarídeos, no endotélio e musculatura lisa vascular. Não é regulada por cálcio. Produz grande quantidade de NO que tem efeito citostático por inibição de enzimas contendo ferro, também causando fragmentação de DNA. ^[27]

A isoforma III ou óxido nítrico-sintase endotelial (eNOS) é uma NOS constitutiva e produz NO em endotélio vascular sob condições basais. O NO libertado no lúmen vascular é um potente inibidor de adesão e agregação plaquetária na parede vascular e também inibe a adesão de leucócitos ao endotélio vascular, inibe a proliferação de células da musculatura lisa vascular e, também é responsável pela regulação da pressão sanguínea e contractilidade do músculo cardíaco. No sistema circulatório, em particular na coagulação sanguínea, o NO está envolvido com a cascata fibrinolítica e trombótica associada com dano endotelial, sendo que as propriedades antitrombóticas do NO resultam em parte da inibição da adesão e agregação plaquetária. A deficiência de NO foi associada com trombose arterial. Nos vasos sanguíneos, o NO exerce uma acção na modulação do diâmetro vascular e da resistência vascular pela sua habilidade em relaxar o músculo liso vascular. O NO inibe a interacção de elementos sanguíneos circulatórios com a parede do vaso. Uma deficiência de NO pode promover trombose vascular. A diminuição da vasodilatação dependente do endotélio pode ser induzida por hipertensão, diabetes e/ou aterosclerose. O NO pode ser um inibidor da adesão leucocitária em microvasos pós-capilares. ^[27]

c) Citocinas

As citocinas são proteínas produzidas por uma grande variedade de tipos celulares. A produção de citocinas é desencadeada quando as células são activadas por diferentes estímulos, como agentes infecciosos, tumores ou stress. As citocinas actuam na comunicação entre as células, promovendo a indução ou regulação da resposta imune.^[25]

Algumas citocinas são particularmente importantes como mediadoras dos fenómenos da inflamação, destacando-se a interleucina 1 (IL-1) e o factor de necrose tumoral (TNF), que exercem múltiplas acções em células endoteliais e estimulam a libertação de neutrófilos para a circulação.^[25]

A inflamação é desencadeada pela libertação dos mediadores químicos originados nos tecidos lesados e nas células migratórias, que provocam distúrbios na membrana celular ocasionando a activação da fosfolipase A_2 e libertação do ácido araquidónico e dos seus metabólitos, como o PAF-acéter (factor activador de plaquetas) e enzimas lisossómicas. Essas enzimas têm uma potente actividade citotóxica e destroem as células vizinhas, libertando assim novas enzimas. O metabolismo do ácido araquidónico dá origem a inúmeras substâncias biologicamente activas que tem um importante papel na fisiopatologia da inflamação.^[28]

Em relação à actividade anti-inflamatória, os flavonóides actuam:

- modulando as células envolvidas na inflamação;
- inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (por exemplo, TNF- α e IL-1),
- modulando a actividade das enzimas da via do ácido araquidónico, tais como fosfolipase A_2 , ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase;
- modulando a enzima formadora de óxido nítrico, a óxido nítrico sintase induzida (iNOS).

1.3.2.2 Alguns flavonóides com actividade anti-inflamatória

Os flavonóides capazes de diminuir a produção de NO e a expressão da enzima iNOS, são a apigenina, luteolina, crisina, miricetina e a isoflavona genisteína.^[23]

Os flavonóis morina e miricetina são estudados por inibirem a enzima lipo-oxigenase e as flavonas crisina, apigenina, luteolina e os flavonóis morina, rutina e galangina pela inibição da enzima ciclo-oxigenase.^[23]

A inibição da enzima fosfolipase A_2 é obtida com os flavonóides quercetina, caempferol, miricetina e com as flavanonas, hesperetina e naringenina.

Os flavonóides genisteína, quercetina, luteolina, apigenina e rutina são capazes de inibir a secreção de citocinas pró-inflamatórias. ^[23]

Tabela 3. Alguns flavonóides e seus respectivos alvos farmacológicos no processo inflamatório. ^[23]

Alvos farmacológicos	Flavonóides
1. Modulação de células envolvidas na inflamação (ex. linfócitos e neutrófilos)	Luteolina Apigenina Miricetina Quercetina Glicosídeos de caempferol Acetil-ramnosídeos de patuletina Baohuosídeo Plantagosídeo Vitexina Shaftosídeo
2. Inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias (ex. TNF- α e IL-1)	Genisteína Quercetina Luteolina Apigenina Rutina
3. Modulação da enzima formadora de NO (iNOS)	Quercetina Caempferol Apigenina Luteolina Miricetina Genisteína Crisina
4. Modulação da enzima fosfolipase A2 (via do ácido araquidónico)	Quercetina Caempferol Hesperetina Naringenina Miricetina
5. Modulação da enzima ciclo-oxigenase (via do ácido araquidónico)	Quercetina Caempferol Crisina Apigenina Galangina Luteolina Morina Rutina
6. Modulação da enzima lipo-oxigenase (via do ácido araquidónico)	Quercetina Kaempferol Morina Miricetina Centaureidina 5,3'-di-hidróxi-4'-metoxi-7 carbometoxiflavonol

1.3.3 Flavonóides: relação estrutura/actividade anti-inflamatória

Os estudos efectuados sobre a relação estrutura-actividade (SAR) anti-inflamatória dos flavonóides têm como propósito identificar os grupos funcionais na molécula que são responsáveis pela acção farmacológica e compreender como ocorre a interacção do flavonóide com o seu receptor. [23][29]

Num estudo realizado em 2008 por Loke, W. M. et al., a quercetina foi comparada aos seus análogos estruturais a luteolina, a caempferol e taxifolina, de forma a compreender a sua acção inibitória sobre o leucotrieno B₄ (LTB₄) (figura 3). Nesse estudo constatou-se que o grupo funcional OH na posição 3' do anel B que forma com o OH do carbono 4' um sistema *orto* di-hidroxilado é um requisito para a actividade inibitória do LTB₄. A luteína não possui um OH na posição 3 do anel C, mas sim um H, e essa modificação estrutural não acarreta efeitos significativos para a actividade anti-inflamatória. Ao contrário da luteína, que embora possua uma modificação estrutural mantém a sua actividade inibitória, o caempferol na ausência do OH em 3' do anel B (perda do sistema *orto* di-hidroxilado) evidencia um decréscimo da sua actividade em 60% comparativamente á quercetina. Por ultimo a inexistência de ligação dupla entre os carbonos 2-3 do anel C, exemplo do caso da taxifolia, tem como consequência uma supressão da actividade inibitória do LTB₄. [23][29]

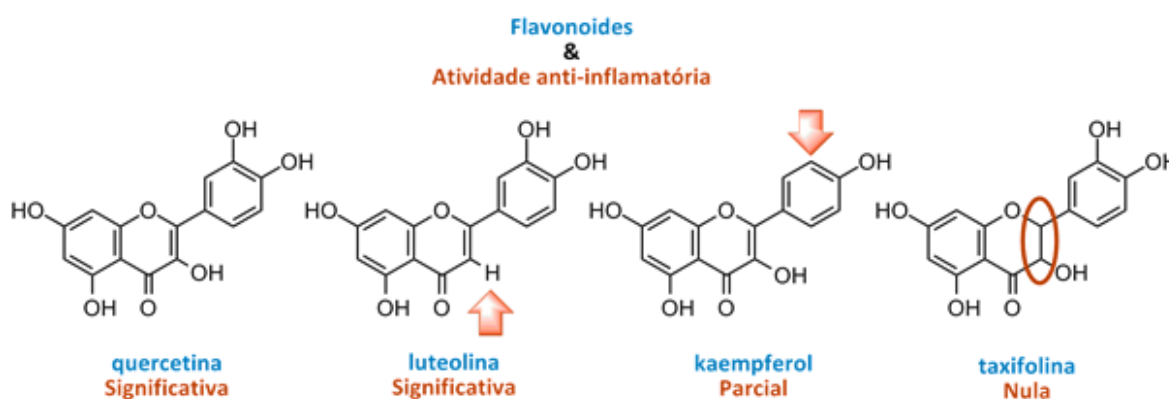


Figura 19 – Relação estrutura-actividade entre quercetina e seus análogos estruturais. [23]

O estudo de Kim, H. P. et al. em 2004 observou que a flavonona hesperitina apresenta uma menor actividade PLA₄ (enzima fosfolipase A₄) em comparação á quercetina, caempferol e miricetina. A menor actividade é devido à falta da ligação dupla em 2-3 do anel C, que favorece a ligação do flavonóide ao receptor da enzima. [23]

Os estudos efectuadas por Loke, W. M. et al. e Coutinho et al. observaram que a presença de grupos de OH nas posições 5 e 7 do anel A e nas posições 3' e 4' do anel B são importantes para a actividade, enquanto que a glicosilação desses grupos reduz a actividade anti-inflamatória. ^{[23][29]}

Estudos comparativos entre pares glicosídeo-aglicona também demonstraram que a adição de resíduos de açúcares reduz claramente a actividade anti-inflamatória.

Assim, dentre os factores estruturais que influenciam a actividade anti-inflamatória de flavonóides destacam-se: ^{[23][29]}

- a insaturação no anel C (posições 2-3);
- o número e a posição de grupos OH:
- o carbonilo em C-4 (Anel B)
- a ausência da glicosilação da molécula;

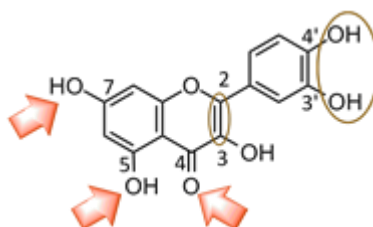


Figura 20 – Requisitos estruturais observados para actividade anti-inflamatória de flavonóides. ^[23]

2. Benefício dos flavonóides dos chás

2.1. Acção a nível cardiovascular

Na última década numerosas pesquisas científicas têm sido publicadas sobre os efeitos dos flavonóides na dieta e o menor risco de doenças cardiovasculares. ^[30]

O chá é uma das bebidas mais populares no mundo, não só pelo seu aroma, sabor, como pelo seu baixo custo. Sendo muito rico em polifenóis, muito particularmente flavonóides, têm sido feitos vários estudos que encontraram uma associação inversa entre o consumo de chá e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A título de exemplo um dos estudos efectuados, demonstrou uma diminuição do risco relativo de incidência de infarte do miocárdio em bebedores diários de cerca de 375ml de chá, comparativamente com um grupo de não bebedores de chá. ^[30]

Estudos epidemiológicos têm investigado a relação entre os flavonóides na dieta e o menor risco de doenças cardíacas. ^[30]

Uma análise de estudos efectuados sobre os flavonóides em relação à doença cardíaca coronária mostrou que a ingestão de flavonóides estava associada a uma redução de 20% no risco de doença cardíaca coronária fatal. ^[30]

Pensa-se que a inflamação desempenhe um papel importante na iniciação e progressão da doença vascular. Os resultados de estudos *in vitro* sugerem que os flavonóides presentes no chá têm efeitos sobre mediadores inflamatórios com efeitos anti-inflamatórios. ^[30]

O desenvolvimento de disfunção endotelial pode contribuir para a patogénese da doença cardiovascular. Uma das moléculas mais importantes libertadas pelo endotélio é o NO. Esta molécula é um importante regulador do tónus da parede arterial. A disfunção endotelial é caracterizada pela perda da vasodilatação normal dependente do endotélio e pela perda da vasodilatação mediada pelo NO na artéria.

Os resultados de vários estudos *in vitro* indicam que os flavonóides do chá causam um relaxamento nos anéis dos vasos da aorta de ratos através do processo óxido nítrico/endotélio-dependente. ^[30]

Olszanecki et al. (2002), concluíram que alguns flavonóides são potentes inibidores da indução da iNOS e, ao mesmo tempo, eles podem aumentar a actividade da eNOS.

Os flavonóides já foram descritos como inibidores da peroxidação lipídica (também chamada de lipoperoxidação), *in vitro*, por actuarem como antioxidantes eliminando os aniões superóxido e os radicais hidroxil. Em consequência da lipoperoxidação, pode

haver perda de integridade da membrana, alteração no fluxo de iões transmembrana, disfunção no transporte de Na^+/K^+ , influxo excessivo de cálcio com activação de enzimas como as proteases. ^[31]

Galvez et al. (1995) avaliaram a actividade antiperoxidativa de vários flavonóides sobre a peroxidação das membranas de células do fígado de ratos, induzidas pelo sistema não enzimático (sistema ácido ascorbico- Fe^{2+}) e pelo sistema enzimático (ácido araquidónico). Todos os flavonóides testados foram capazes de inibir a peroxidação lipídica induzida pelos dois sistemas. ^[31]

2.2 Acção a nível geniturinário

A actividade diurética exercida por fármacos sintéticos e por plantas medicinais é caracterizada farmacologicamente como uma estimulação da secreção de iões de sódio, cloro ou bicarbonato, além de diminuir o processo de transporte activo de electrólitos e outros solutos da urina tubular para as células tubulares e em seguida para o fluido extracelular, aumentando consequentemente o volume de urina excretado. ^[32]

Os diuréticos são empregues principalmente no alívio de edemas e como coadjuvantes no controlo da hipertensão arterial. Alguns diuréticos aumentam a excreção do cloreto e são úteis em casos de edema, outros aumentam a excreção da ureia e outros ainda podem simplesmente aumentar, durante algumas horas, o volume de urina (exemplos: cavalinha, chá-de-java, salsa, taráxaco). ^[32]

3. Flavonóides em plantas utilizadas como chás com propriedades a nível cardiovascular

3.1 Ginkgo biloba, *Ginkgo biloba* L.

Descrição da planta

A *Ginkgo biloba* (*Ginkgo biloba* L.) é uma árvore sagrada do oriente, originária da China, do Japão e da Coreia. É cultivada em diversos países tais como: China, França e sudoeste dos Estados Unidos da América. ^[33]



Figura 21 – *Ginkgo biloba*. ^[34]

Constituintes químicos flavonóides

Os principais constituintes são os mono, di e triglucósidos dos flavonóides quercetina, caempferol e isorramnetina e ésteres cumarínicos de flavonóides. Outros flavonóides incluem as biflavonas (amentona) e derivados metilados. ^[33]

Parte da planta utilizada

São utilizadas as folhas secas, inteiras ou fragmentadas, contendo no mínimo 0,5% de flavonóides calculados como heterósidos flavónicos no fármaco seco (Farmacopeia Portuguesa 9). ^[33]

Actividade farmacológica

Os flavonóides de *Ginkgo biloba*, principalmente os derivados da rutina (e os ginkgólidos) conseguem facilmente complexar compostos radicalares reactivos, como o radical hidroxilo e o anião superóxido. Numerosos estudos em animais comprovam essa acção, bem como a inibição exercida pelo extracto de *Ginkgo biloba* sobre a lipoperoxidação induzida por exposição de leucócitos humanos ao peróxido de hidrogénio. ^[33]

Maitra e Yan em 1995 comprovaram nos seus trabalhos a acção inibidora do extracto de *Ginkgo biloba* sobre o radical peroxil e protecção da lipoproteína de baixa densidade (LDL), da oxidação. ^[22] O seu extracto também inibe a formação de radicais reactivos de oxigénio em leucócitos humanos tratados com acetato de miristato de forbol. ^[35]

Bridi em 2001, através de observações feitas em ratos observou que o extracto de *Ginkgo biloba* diminui a peroxidação lipídica aumentando a actividade de enzimas antioxidantes (catalase e superóxido dismutase) e diminuiu o stress oxidativo da bleomicina ao aumentar a actividade das enzimas antioxidantes, principalmente da xantina oxidase (forma enzimática que gera espécies reactivas de oxigénio). ^[35]

Em estudos realizados em coelhos submetidos á oclusão aórtica, verificou-se a capacidade da *Ginkgo biloba* para reduzir a oxidação lipídica e a apoptose de células neuronais. ^[35]

Noutros estudos foram comparados os efeitos de um extracto de *Ginkgo biloba*, fentolamina, propranolol, galopamil, teofilina, e extracto de papaverina na resposta contráctil bifásica da norepinefrina (a norepinefrina eleva as pressões sanguíneas sistólica e diastólica) na aorta isolada de um rato, concluiu-se que o extracto de *Ginkgo biloba* teve uma acção musculotrópica semelhante ao da papaverina (vasodilatador). Esta actividade foi previamente atribuída à quercetina, caempferol e isoramnetina, isolado a partir de folhas de *Ginkgo biloba*. Os flavonóides e a papaverina inibem a fosfodiesterase 3', 5'-GMP-Cíclica, que por sua vez induz o relaxamento do endotélio da aorta isolada do coelho por potenciar os efeitos dos factores de relaxamento do endotélio. ^[35]

Experiencias efectuadas na aorta torácica isolada de ratos com o extracto de *Ginkgo biloba* levaram a concluir que a quercetina produz uma vasodilatação por aumento do Ca^{2+} intracelular nas células endoteliais vasculares. ^[33]

Robak J. e Pincemail J et al. através de estudos *in vitro* demonstraram que os extractos de *Ginkgo biloba* conseguem neutralizar os radicais livres. Os extractos de *Ginkgo biloba* têm sido referidos como capazes de reduzir a peroxidação lipídica

A actividade antioxidante do extracto de *Ginkgo biloba* pode prolongar a semi-vida do factor de relaxamento do endotélio por captar/neutralizar os aniões superóxido. [35]

Constituintes químicos flavonóides

Os constituintes principais são os flavonóides como a vitexina, ramnosídeo, hiperosídeos, rutina, calculados como princípio activo hiperosídeo e as procianidinas oligoméricas, com conteúdo de aproximadamente 3% calculadas como princípio activo epicatequina.^[37]

Actividade farmacológica

O *Crataegus oxyacantha* é uma planta utilizada em patologias cardiovasculares. É uma planta amplamente utilizada por médicos na Europa na sua forma padronizada para a fase inicial da insuficiência cardíaca de classe I e classe II, conforme a classificação do New York Heart Association (NYHA), e em várias outras situações cardiovasculares.^[38]

A maioria dos estudos clínicos do *Crataegus oxyacantha* tem utilizado preparações com folhas e flores. Esses estudos em geral, demonstraram que a planta dilata os vasos sanguíneos periféricos, aumenta o metabolismo do músculo cardíaco, dilata os vasos sanguíneos coronários, melhora o fornecimento de sangue para o coração e inibe enzima conversora da angiotensina (ACE). A ACE tem um efeito cardio-protector, devido à sua capacidade para diminuir as exigências de oxigénio do tecido cardíaco.^[39] Segundo os estudos de Kaul R. e de Wagner H., os efeitos ionotrópicos positivos do *Crataegus oxyacantha* são atribuídos aos constituintes flavonóides e à procianidina das folhas com flores. Os flavonóides catequina, hiperosídeo, luteína 7-glucosídeo, rutina e a vitexina isolados de um extracto hidroalcoólico das folhas com flores do *Crataegus* exibem efeitos ionotrópicos positivos, e prologaram o período refractário em miócitos cardíacos em corações isolados de cobaias.^[39]

Num estudo clínico, referido pela OMS (Organização Mundial de Saúde), o efeito da administração de um extracto metanólico de 200mg três vezes ao dia, ajustado para 18mg flavonóides foi testado em pacientes com insuficiência cardíaca de classe II para comparar a capacidade de exercício através da bicicleta ergométrica e utilizou um grupo de placebo para controlar a veracidade dos resultados. No final observou-se que o valor da capacidade de trabalho médio aumentou no grupo do *Crataegus oxyacantha*, mas não no grupo do placebo. A pressão arterial sistólica e a frequência cardíaca foram significativamente menores no grupo do *Crataegus oxyacantha* em relação ao grupo do placebo.^[39]

Outro estudo, referido pela OMS, em pacientes que sofriam de múltiplas comorbidades foi testado o efeito de um extracto etanólico contendo 18,75% de

proantocianidinas. Os pacientes tratados com *Crataegus oxyacantha* mostraram uma diminuição da frequência cardíaca e melhorias na pulsação cardíaca tanto em condições de repouso como de exercício. Os doentes também apresentaram melhorias significativas na avaliação psicológica, incluindo uma redução da ansiedade e melhoria no padrão de sono. ^[39]

No estudo efectuado por Schilcher H., realizado em humanos, após aplicação de 160 a 900 mg/dia de extractos (padronizado em procianidinas oligoméricas e em flavonóides) por um período até 56 dias no caso de insuficiência cardíaca estágio II conforme a NYHA, observou-se melhoras de queixas subjectivas, aumento da tolerância ocupacional, redução da frequência e pressão, aumento da fracção de ejeção e aumento do limiar anaeróbico. ^[40]

O extracto de 0,05mg/mL das folhas com flores, constando de duas fracções de proantocianidinas e duas fracções de flavonóides, teve um efeito ionotrópico positivo sobre os corações isolados de cobaias e foi capaz de dilatar os vasos sanguíneos coronários. ^[39]

A administração intravenosa de um extracto padronizado em ratos anestesiados, contendo 18,75% de procianidinas oligoméricas, diminui a resistência periférica total e a pressão sanguínea. Um extracto equivalente a 0,03 mg/mL de procianidinas, nos corações isolados de rãs, também teve acção beta-bloqueadora e inibiu a taquicardia induzida pela epinefrina. ^[39]

Através de um estudo de Schussler e Col.(1995) realizado num coração isolado de hamster foi verificado a influência dos principais flavonóides do *Crataegus oxyacantha* sobre o aumento do fluxo e da velocidade de relaxamento coronário, no final foi sugerido que a inibição da fosfodiesterase de monofosfato de adenosina 3',5-cíclico seria um dos mecanismos da acção cardíaca dos flavonóides do *Crataegus oxyacantha*. ^[33]

Os flavonóides do *Crataegus oxyacantha* sobretudo os derivados da vitexina apresentam um efeito protector em áreas isquémicas, diminuem a actividade do ventrículo esquerdo e reduzem a extensão da área necrótica e o nível das transaminases. ^[41]

No estudo de Lièvre M et al. o hiperosídeo isolado a partir de um extracto de folhas com flores foi administrado por via intravenosa (dose de 1mg/Kg de peso corporal) e por infusão (0,1mg de peso corporal/min, durante 30minutos) em cães. Observaram que o hiperosídeo em ambas as formas de administração diminuiu a pressão sanguínea nos cães anestesiados. ^[42]

Em estudos efectuados *in vitro*, Chatterjee SS et al., observaram que as folhas com flores do *Crataegus oxyacantha* possuem actividade antioxidante. Um extracto com

18.75% de procianidinas oligoméricas inibiu a peroxidação lipídica (IC₅₀ 0,48mg/ml) e actividade da elastase (0,84mg/ml).^[42]

Num estudo multicêntrico, duplo-cego, referido pela OMS o extracto do *Crataegus oxyacantha* foi comparado favoravelmente ao captopril (fármaco inibidor da enzima conversora da angiotensina I) no tratamento de indivíduos com insuficiência cardíaca de classe II. Tanto o captopril como o *Crataegus oxyacantha* reduziram a resistência do fluxo sanguíneo periférico.^[39]

3.3 Agripalma, *Leonurus cardiaca* L.

Descrição da planta

A Agripalma (nome comum da planta *Leonurus cardiaca*) é uma planta herbácea perene, originária da Ásia Central, é espontânea em florestas e terrenos incultos na Europa Central e América do Norte.^[33]



Figura 23- Agripalma, *Leonurus cardiaca*.^[43]

Parte da planta utilizada

São utilizadas as partes floridas secas, inteiras ou fragmentadas de *Leonurus cardiaca* com um mínimo de 0,2% de flavonóides, expressos em hiperosido (Farmacopeia Portuguesa 9).^[33]

Constituintes químicos flavonóides

Os principais constituintes das partes floridas secas são flavonóides nomeadamente os O-glicosídeos da quercetina incluindo a rutina, quercetina, isoquercetina o hiperosídeo, os O-glicosídeos do caempferol e os O-glicosídeos apigenina. Também estão presentes derivados da apigenina como o genkwanin e o quinquetoside.^[39]

Actividade farmacologia

A *Leonurus cardíaca* é tradicionalmente usada na medicina tradicional chinesa para o tratamento de perturbações cardiovasculares, devido ao facto de possuir no seu extracto flavonóides antioxidantes capazes de inibir eficazmente reacções oxidativas mediadas por agentes inflamatórios e capazes de inibir a peroxidação lipídica dependente do ferro.^[39]

Sun J et al. em 2005, isolou um extracto da planta *Leonurus cardíaca* que foi utilizado para avaliar os efeitos cardioprotectores na isquemia do miocárdio. Desse extracto foi administrada uma dose diária oral de 400mg/kg em ratos, uma semana antes do enfarte do miocárdio e até três semanas após o enfarte do miocárdio. Os ratos sobreviventes foram mortos em momentos diferentes e os ventrículos esquerdos desses ratos foram sujeitos a testes bioquímicos. Os resultados demonstraram pela primeira vez que a *Leonurus cardíaca* tem efeitos antioxidantes tanto *in vitro* como *in vivo*.^[39]

4. Flavonóides em plantas utilizadas como chás com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias no trato geniturinário

4.1 Cavalinha, *Equisetum arvense* L.

Descrição da planta

A cavalinha (nome popular da planta *Equisetum arvense*) é uma planta perene sem flores, com rizoma subterrâneo negro encontrada em áreas húmidas como pântanos, marismas, ribeiros e rios. O género *Equisetum* consta de 29 espécies de plantas perenes robustas, reproduzidas por esporos, que ocorrem em lugares frescos e húmidos no mundo inteiro, menos na Australásia. ^[44]

A *Equisetum arvense* e *Equisetum hyemale* são encontradas principalmente na Europa, América do Norte e Ásia. Existem outras espécies de cavalinha sem uso medicinal. ^[44]

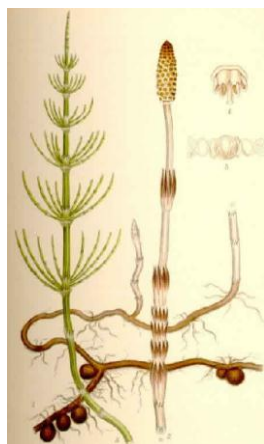


Figura 24- Cavalinha, *Equisetum arvense*. ^[44]

Constituintes químicos flavonóides

Os flavonóides presentes são: caempferol-3-Osophoroside-7-O-glucoside, caempferol-3-O-(6"-O-malonylglucoside)-7-O-glucoside, caempferol-3-Osophoroside, quercetina-3-O-glucoside, apigenina, apigenina-5-O-glucoside, luteolina, luteolin-5-O-glucoside, genkwanin-5-O-glucoside e a isoquercitrina. ^[45]

Actividade farmacológica

Os fitoterapeutas utilizam a cavalinha (*Equisetum arvense*) para tratar problemas renais e urinários. A *Equisetum arvense* tem propriedades que fortalecem tanto a bexiga como o tecido renal. Estes efeitos tonificantes facilitam a redução da inflamação em doenças como cálculos renais, infecções da bexiga e do rim, debilidade da bexiga, debilidade do rim e incontinência urinária. Os flavonóides são os responsáveis pela forte acção diurética da *Equisetum arvense*.^[45]

A *Equisetum arvense* é usada muitas vezes como componente de fármacos diuréticos. O efeito diurético já foi testado em vários estudos *in vivo*, apresentando acção reguladora e adstringente do trato geniturinário, actuando como diurético e auxiliando no tratamento das infecções moderadas do trato urinário baixo.^[45]

Num estudo realizado com uma preparação *E. arvense* e testada em cães mostrou um efeito diurético superior em 15-20% em comparação com água.^[45]

Wachter (1938) realizou cerca de 650 ensaios em ratos para testar o efeito diurético da planta. O efeito diurético de uma infusão (de 6%) da planta foi testado em 210 ratos em comparação com a água. Após 30 minutos o efeito foi de cerca de 196% maior, 45% depois de 79 minutos e depois de 60 minutos cerca de 39% maior. A velocidade da eliminação da urina foi muito maior no grupo com chá do que no grupo da água.^[45]

Em 1983, Tiktinsky e Bablumyan, examinaram parâmetros na urina de 34 pacientes que receberam uma decocção (técnica de laboratório para análise química) de *E. arvense*. A duração total do tratamento foi de 3 meses e todos os pacientes apresentavam um histórico de nefrolitíase. Após o tratamento, os pacientes que receberam *Equisetum arvense* apresentaram um aumento estatisticamente significativo de 18-24% na diurese quando comparado com os níveis basais e apresentaram um aumento de 22% na taxa de filtração glomerular (aumento de 74.5 ± 0.97 para 87.8 ± 1.1 ml/min).^[46]

4.2 Chá-de-java, *Orthosiphon stamineus* Benth.

Descrição da planta

Orthosiphon stamineus é uma erva medicinal pertencente à família Lamiaceae, cultivada no Sudeste Asiático. O *Orthosiphon stamineus* é um arbusto herbáceo, atingindo a uma altura média de 1,5 m. As folhas estão dispostas em pares opostos.

As folhas desta planta são utilizadas no Sudeste da Ásia e em países Europeus para o chá de ervas, conhecido como "Java chá". [47]



Figura 25- *Orthosiphon stamineus*. [47]

Constituintes químicos flavonóides

Estão presentes os flavonóides sinensetina, tetrametil-escutelareína, eupatorina, salvigenina, cirsimaritina, pilloina, trimetil-apigenina e tetrametil-luteolina. Estes flavonóides lipófilos estão presentes numa concentração de cerca de 0,2-0,3%, também estão presentes flavonóides glicosilados. [48][49]

Actividade farmacológica

A acção diurética é o pré-requisito de qualidade que tem de ser possuída pelos fármacos utilizados para o tratamento das pedras nos rins. Um aumento no volume de fluido no rim ajudará na dissolução das pedras, auxiliando a sua excreção. Vários estudos demonstram uma evidência científica para o uso tradicional de *Orthosiphon stamineus* no tratamento de pedras nos rins e gota. [49]

Em 1989 Casadebaig-Lafon testou a actividade diurética de *Orthosiphon stamineus* através de dois extractos: um extrato aquoso, e um extrato hidro-alcoolico (70%). Os extratos foram administrados oralmente, em duas doses diferentes, a ratos machos e foram recolhidas amostras de urina durante seis horas. No estudo não foi utilizado nenhum controlo positivo. O aumento do volume de urina foi estatisticamente significativo em todos os grupos que receberam o extrato em comparação aos controlos (tratados com água). O extracto aquoso mostrou resultados mais interessantes pois juntamente com o aumento da diurese ocorreu simultaneamente o

aumento da excreção de iões cloreto (Cl⁻). Em todos os grupos tratados, a excreção urinária de potássio (K⁺) não foi alterada.^[50]

Um pouco mais tarde em 1992, Englert e Harnischfeger estudaram também a actividade diurética de um extracto aquoso preparado a partir de folhas de *Orthosiphon stamineus* em ratos machos. Neste estudo foi utilizado um composto de referência, a furosemida (diurético da ansa). O resultado deste estudo mostrou que extracto aquoso de *Orthosiphon stamineus* e a furosemida não induziram um aumento do volume de urina.^[50]

No mesmo ano, um extracto aquoso de *Orthosiphon stamineus*, administrado por via oral, aumentou consideravelmente a excreção de iões em ratos a um nível comparável ao obtido com a furosemida. Constatou-se que o aumento da excreção de iões não foi devido a um teor de potássio do material de partida.^[51]

Schut e Zwaving em 1993 isolaram das folhas de *Orthosiphon stamineus* os flavonóides sinensetina e 3-hidroxi-5,6,7,4-tetrametoxiflavona. Numa primeira experiência, uma dose de 10 mg/kg destes flavonóides foi administrada por via intravenosa a ratos machos anestesiados. Numa segunda experiência, no mesmo modelo experimental, as doses de 1 mg/kg de cada composto foram comparados com o composto de referência a hidroclorotiazida (diurético tiazídico) (1 mg / kg). Para ambos os compostos, a dose de 10 mg/kg induziu um efeito diurético. A dose de 1 mg/kg produziu também um efeito diurético, mas foi evidenciado que a hidroclorotiazida actua mais rapidamente e produz uma maior diurese num tempo mais curto. No entanto os autores questionaram a eficácia diurética dos flavonóides estudados uma vez que apenas alguns décimos de miligramas são extraídos pela água quente das folhas durante a preparação de chá.^[50]

Num estudo realizado em 1999, extractos aquosos de *Sambucus nigra*, *Arctostaphylos uva-ursi* e extractos de hidroalcolicos de *Orthosiphon stamineus* e *Hieracium pilosella* foram testados em ratos para avaliar as suas actividades diuréticas. A avaliação farmacológica revelou que os extractos conduziram a um aumento do fluxo de urina. A excreção urinária de sódio em ratos foi aumentada com *Orthosiphon stamineus* e *Sambucus nigra*.^[52]

Mais recentemente em 2003, Olah estudou os extractos das folhas de *Orthosiphon stamineus* (extraídos a etanol a 50% e a etanol a 70%v/v). A actividade diurética foi testada em ratos machos após a administração oral de água (controlo), e 700 mg / kg de cada extracto, a furosemida (30 mg / kg, via oral) foi usado como um composto de referência. O volume de urina foi de 2,5 vezes maior em ratos tratados com a furosemida e aumentou 1,3 vezes mais nos ratos que receberam o extrato etanólico a 50%, em comparação com o controlo. Os ratos que receberam o extrato etanólico a

70% não demonstraram aumento da diurese. A excreção de sódio foi aumentada em todos os animais em comparação com os controlos, e o efeito natriurético do extracto etanólico a 50% foi superior ao da furosemida. A excreção de potássio também foi aumentada, mas permaneceu abaixo do obtido com a furosemida.^[50]

5. DISCUSSÃO / CONCLUSÃO

As plantas *Ginkgo biloba* L., *Crataegus oxyacantha* e *Leonurus cardíaca*, foram estudadas neste trabalho devido à sua acção protectora a nível cardiovascular através dos seus constituintes flavonóides e as plantas *Orthosiphon stamineus* e *Equisetum arvense* devido à sua acção diurética.

O extracto de *Ginkgo biloba* devido ao conjunto dos seus constituintes flavonóides inibe a agregação plaquetária, aumenta o fluxo sanguíneo cerebral e periférico e inactiva os radicais livres.

A *Ginkgo biloba* pelas propriedades dos flavonóides quercetina, caempferol e isoramnetina apresenta um efeito vasodilatador semelhante ao da papaverina que é um vasodilatador com acção já comprovada. O flavonóide rutina presente no extracto de *Ginkgo biloba* L. consegue captar compostos radicalares como o superóxido e a quercetina consegue actuar como vasodilatador por aumento do Ca^{2+} intracelular nas células endoteliais vasculares. O conjunto de flavonóides de *Ginkgo biloba* inibe a fosfodiesterase 3',5'-GMP-cíclica que induz o relaxamento do endotélio. O efeito vasodilatador conseguido pelo extracto de *Ginkgo biloba* pode tornar-se útil como co-adjuvante em terapêuticas de hipertensão, permitindo baixar a pressão arterial.

A *Leonurus cardíaca* apresenta efeitos antioxidantes tanto *in vitro* como *in vivo*. O extracto da planta inibe reacções oxidativas mediadas por agentes inflamatórios e inibe a peroxidação lipídica dependente do ferro, sendo uma das actividades desejadas dos antioxidantes.

A *Ginkgo biloba* e a *Leonurus cardíaca* pela acção dos flavonóides quercetina e caempferol presentes nos seus extractos conseguem a inibição da enzima fosfolipase A_2 prevenindo indirectamente a vasodilatação arteriolar.

Outra planta estudada foi o *Crataegus oxyacantha* utilizado para a insuficiência cardíaca de classe I e classe II (segundo a classificação NYHA). A actividade terapêutica da planta foi atribuída principalmente aos flavonóides. A quercetina, a luteína 7-glucosídeo, a rutina e a vitexina num dos estudos aumentaram a força de contracção do coração e prolongaram o período refractário. A inibição da fosfodiesterase de monofosfato de adenosina 3',5'-cíclico poderá ser um dos mecanismos da acção cardíaca dos flavonóides do *Crataegus oxyacantha*.

A rutina presente no *Crataegus oxyacantha* e na *Leonurus cardíaca* é promissora na modulação da enzima ciclo-oxigenase e na inibição da produção de citocinas pró-inflamatória.

Os flavonóides quercetina, luteolina, apigenina presentes na *Equisetum arvense* são capazes de inibir a secreção de citocinas pró-inflamatórias, o que faz com que o extracto da planta possa actuar como anti-inflamatório. Para além desse efeito a *Equisetum arvense* tem uma acção diurética já estudada. A actividade diurética foi atribuída aos flavonóides.

O *Orthosiphon stamineus* nos vários estudos realizados estimulou um aumento da diurese, embora o aumento fosse discrepante nos diferentes estudos, e por vezes o aumento da excreção de iões cloreto. Dos flavonóides presentes no seu extracto a sinensetina e a 3-hidroxi-5,6,7,4-tetrametoxiflavona foram isolados de modo a ser estudado a sua capacidade diurética. Estes flavonóides testados em diferentes doses induziram um aumento da diurese no entanto os autores põem em causa a eficácia diurética dos flavonóides.

Em relação ao emprego dos flavonóides no tratamento do processo inflamatório, a quercetina, o caempferol, a hesperidina, a miricetina e a naringenina apresentam significativa acção anti-inflamatória, que foi atribuída à inibição da enzima fosfolipase A2, lipo-oxigenase, ciclo-oxigenase e à inibição da produção de óxido nítrico, através da modulação da enzima iNOS. Outros flavonóides, além dos já mencionados, são capazes de diminuir a produção de óxido nítrico e a expressão da enzima iNOS, entre os quais se podem citar a apigenina, a luteolina, a crisina, a miricetina e a genisteína.

Dos estudos mencionados, a maioria tem sido efectuados usando modelos animais, sendo a sua eficácia em humanos pouco explorada até à data. Por isso, embora haja algum apoio à ideia que os flavonóides do chá possam atenuar o desenvolvimento de certas patologias, são necessários mais estudos.

Os ensaios efectuados com os extractos, apesar do potencial interesse, não foram estudados em ensaios com o mesmo padrão, o que pode levar a resultados discrepantes. Na verdade, há ensaios que são criticados por não considerarem um grupo de controlo ou por não fazerem comparações com fármacos. Também o facto de não existirem estudos controlados que investiguem os efeitos a longo prazo da ingestão regular de chá torna os efeitos estudados incertos. Também se registou alguma variação nas doses usadas o que pode influenciar a diferença nos efeitos

produzidos. Este facto faz sobressair, mais uma vez, a dificuldade de comparação entre ensaios com o mesmo extracto. Assim, outras considerações devem ser feitas relativamente aos extractos utilizados, deve ser utilizada a mesma parte da planta (folhas, raízes, rizoma, caule), para o resultado não ser influenciado, e os mesmos parâmetros.

São necessários ainda mais estudos realizados a partir de extractos aquosos, isto porque o que é comum entre as populações é o uso de plantas medicinais na forma de chás. Seria interessante realizar mais estudos de acordo como a população produz esses chás, pois tais fitoterapicos são produzidos, normalmente, usando-se apenas água quente e uma porção das folhas e/ou outra parte da planta.

Deve existir a consciência de que as plantas apesar dos seus efeitos benéficos não são isentas de efeitos adversos. A *Ginkgo biloba* abordada neste trabalho apresenta como efeito adverso perturbações no aparelho digestivo traduzindo-se por mal-estar abdominal e náuseas. A *Equisetum arvense* por sua vez pode levar a uma diminuição dos níveis sanguíneos de vitamina B1 (tiamina), o que pode causar uma deficiência de vitamina B1. A *Leonorus cardíaca* e o *Crataegus oxyacantha* não devem ser usados na gestação pois a primeira é emenagoga e a segunda pode alterar a motilidade uterina.

Também deve haver a noção de que os antioxidantes também podem exhibir actividade pró-oxidante, pois um composto antioxidante sob determinadas circunstâncias, pode alterar o seu comportamento de forma a potenciar os danos oxidativos em vez de os inibir. Alguns destes efeitos adversos podem ser potencialmente graves, pelo que devem ser aprofundados os estudos de segurança e eficácia a longo prazo.

Assim a utilização dos flavonóides requer ainda mais estudos que comprovem sua utilização eficiente e segura, necessitando de mais informações sobre seus possíveis efeitos adversos, biodisponibilidade em diferentes formas de administração, caracterizações das propriedades individuais e dosagens necessárias desses princípios ativos. Seria útil que no futuro próximo, possam ser desenvolvidas investigações clínicas *in vitro* e principalmente *in vivo*, com os seus mecanismos de ação, para melhor compreensão da actividade biológica no uso preventivo e na cura de doenças resultantes do stress oxidativo.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) DORNAS, W.C. (2007). Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, vol.28: 241-249.
- 2) NIJVELDT, R.J.; et al. (2001). Flavonóides: uma revisão de prováveis mecanismos de ação e aplicações potenciais. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol.74: 418-425.
- 3) Paulo Rebelo (2008). *Xantonas e bioflavonóides*. Acesso em 1 de Junho de 2012. Disponível em: <http://www.xantonas.pt/antioxidantes.html>
- 4) KRAPP,K.; LONGE; J. (2011). *Manual de Medicinas Complementares*. Espanha, Editorial Oceano: 194-197.
- 5) MARTÍNEZ, A. (2005). Flavonoides. Faculdade de Química Farmacêutica - Universidade de Antioquia, Antioquia: 10-17.
- 6) LAKHANPAL, Rai DK. (2007). Quercetin: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, vol.2: 22-37.
- 7) SILVA, C.M.G. (2011). Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de bebidas contendo polifenóis biotransformados. Tese de mestrado em Ciências da Saúde. Universidade de São Francisco, Bragança Paulista.
- 8) GARCIA, V.S.G. (2010). *Efeito dos flavonóides na captação de HOCL produzido por neutrófilos activados e modulação do factor de transcrição NK-kB em células THP-1-analise da relação estrutura actividade*. Tese de Mestrado em Bioquímica Médica. Faculdade de Ciências – Universidade Clássica de Lisboa, Lisboa.
- 9) MACHADO, H. et al. (2008). Flavonóides e seu potencial terapêutico. *Boletim do Centro de Biologia da Reprodução*, vol.27: 33-39.
- 10) Texto sobre a Rutina. Acesso em 30 de Junho de 2012. Disponível em: <http://www.medicinapratica.com.br/tag/tratamento-fitoterapico/>
- 11) DEWICK, P.M. (2002). Medicinal natural products: a biosynthetic approach. 2ª edição, England: John Wiley & Sons Ltd: 152-155.
- 12) LAU, Tiffany. (2008). “A Healthy Way to Live”: The Occurance, Bioactivity, Biosynthesis, and Synthesis of Kaempferol. *Chemistry 150*. Acesso em 12 de Junho de 2012. Disponível em: http://chemgroups.ucdavis.edu/~shaw/CHE_150_2008/DHC-Website/Kaempferol_LauT.pdf
- 13) QUERCETINA. (1998). *Alternative Medicine Review*, vol.3: 141-143.
- 14) SAMUELSSON, G. (2004). Drugs of natural origin: a Textbook of Pharmacognosy. 5ª edição. Stocholm: Apotekarsocieteten: 259.

- 15) ONG, Kian C.; KHOO Hoon Eng. (1997). Biological Effects of Myricetin. *Gen. Pharmac*, vol.29: 121-126.
- 16) BARREIROS, A. L. B. S. et al. (2006) Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, vol.29: 113-123.
- 17) BOMBARDELLI, E. (1995). *Vitis vinifera*. *Fitoterapia*. vol.66: 291-317
Disponível em:
<http://www2.dq.fct.unl.pt/cadeiras/qpn1/molweb/2004/proantocianidinas/index.htm>
- 18) BEHLING, E.B. et al. (2004). Flavonoid quercetin: general aspects and biological actions. *Alim. Nutr.*, vol.15: 285-292.
- 19) GOMES, A. et al. (2008). Molecular Mechanisms of Anti-Inflammatory Activity Mediated by Flavonoids. *Current Medicinal Chemistry*, vol.15:1586-1605.
- 20) Isabelle Pianet, Michel Laguerre. (2008). *3D-QSAR Investigation of Synthetic Antioxidant Chromone Derivatives by Molecular Field Analysis*. Acesso a 14 de Setembro de 2012. Disponível em:
<http://www.mdpi.org/ijms/specialissues/spampolyphenols.htm>
- 21) CAVACO, P.A.M. (2010). *Mecanismos Moleculares da Actividade Anti-inflamatória de Flavonóides: Captação de HOCl e efeito na activação do factor de transcrição NK-kB em células THP-1-analise da relação estrutura actividade*. Tese de mestrado em Bioquímica Médica. Faculdade de Ciências – Universidade Clássica de Lisboa.
- 22) MATSUBARA, S.; AMAYA, D.B.R.(2006). Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. *Ciênc. Tecnol. Aliment*, vol.26: 401-407.
- 23) COUTINHO, M.A.S. (2009). Flavonóides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório, *Rev. Virtual Quim*, vol.1:241-256.
- 24) PARK, J.S. et al. (2006). Enzymatic preparation of kaempferol from green tea seed and its antioxidant activity. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, vol.54: 2951-2956.
- 25) Teresa Lamano. (2008). *Inflamação*. Acesso 15 de Setembro de 2012. Disponível em: <http://www.forp.usp.br/mef/digipato/Microsoft Word - INFLA.2008.pdf>
- 26) Jacob de Wolff. (2007). *Cascata do ácido araquidónico*. Acesso 23 de outubro 2012. Disponível em:
[http://pt.wikipedia.org/wiki/Cascata do %C3%A1cido araquid%C3%B3nico](http://pt.wikipedia.org/wiki/Cascata_do_%C3%A1cido_araquid%C3%B3nico)
- 27) CERQUEIRA, N.F.; YOSHIDA, W.B. (2002). Óxido nítrico. Revisão. *Acta Cir. Brás*, vol.17: 417-423.

- 28) Certificação digital Nº 0212136/CA. Acesso 5 de Novembro de 2012.
Disponível em: http://www2.dbd.puc-rio.br/pergamum/tesesabertas/0212136_04_cap_01.pdf
- 29) LOKE, W. M. et al. (2008). Metabolic transformation has a profound effect on anti-inflammatory activity of flavonoids such as quercetin: lack of association between antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity. *Biochem. Pharmacol*, vol.75:1045-1053.
- 30) HODGSO, J.M. (2008). Tea flavonoids and cardiovascular disease. *Asia Pac J Clin Nutr*, vol.17: 288-290.
- 31) OLIVEIRA, T.T. et al. (2010). Flavonoids and Atherosclerosis. *RBAC*, vol. 42: 49-54.
- 32) STEIN, Rodrigo. (2011). *Plantas medicinais com propriedades diuréticas, uma revisão*. Trabalho de conclusão apresentado ao curso de Farmácia. Universidade Feevale, Novo Hamburgo: 7-27.
- 33) CUNHA, A. Proença da; ROQUE, Odete Rodrigues. (2007). *Plantas medicinais da Farmacopeia Portuguesa*. 2ª edição, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. vol.2: 52-53, 308-318.
- 34) Wikimedia Commons (s.d*). *File:Ginkgo biloba SZ136.png*. Acesso em 20 de Outubro de 2012. Disponível em: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ginkgo_biloba_SZ136.png
- 35) OMS, Organização Mundial de Saúde. (1999). *Who monographs on selected medicinal plants*. Geneva: Organização Mundial de Saúde. vol.1
- 36) Rosa Celeste (2005). *Pilriteiro - espinheiro-alvar*. Acesso em 22 de Outubro de 2012. Disponível em: <http://traquejosealentos.blogspot.com/2010/10/espinheiro-branco.html>
- 37) ESCOP, European Scientific Cooperative on Phytotherapy. (2003). *Monographs. The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products*. 2ª edição. Stuttgart: George Thieme Verlag: 98-106
- 38) VERMA, S.K. et al. (2007). *Crataegus oxyacantha –a cardioprotective herb*. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, vol.1: 65-71.
- 39) OMS, Organização Mundial de Saúde. (2010). *WHO monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States (NIS)*. Geneve: Organização Mundial de Saúde: 91-105, 229-237.
- 40) Monografia sobre o *Crataegus oxyacantha* L. (s.d). Acesso em 25 de Outubro de 2012. Disponível em: <http://sobrafito.com.br/arquivos/monografias/monografia%20crataegus%20oxyacantha1.pdf>

- 41) REISMEMENTO, M.C.P. (2002). *Memento Terapêutico Programa de Fitoterapia*. Rio de Janeiro: Editora Globo. Acesso a 25 de outubro de 2012. Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/71086001/34/EFEITOS-COLATERAIS>
- 42) OMS, Organizacao Mundial de Saúde. (2004). *Who monographs on selected medicinal plants* Geneve: Organização Mundial de Saúde. vol.2.
- 43) Plantas que curam: AGRIPALMA - Leonurus cardíaca (2011). Acesso a 1 de Novembro de 2012. Disponível em: <http://www.dignow.org/post/plantas-que-curam-agripalma-leonurus-card%C3%ADaca-3146021-11815.html>
- 44) Rose Aiello Blanco (s.d). Cavalinha (Equisetum arvense L.). Acesso em 1 de Novembro de 2012. <http://www.jardimdeflores.com.br/ERVAS/A26cavalinha.htm>
- 45) European Pharmacopoeia. (2008). 6ª edição. Council of Europe. Strasbourg, vol.2: 1794-1795.
- 46) Tiktinskii, OL; Bablumian; IA. (1983). Therapeutic action of Java tea and field horsetail in uric acid diathesis. *Urol Nefrol (Mosk)*, vol.3: 47-50. Acesso a 27 de Outubro de 2012. Disponível em: [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM\[35531-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/BM/BM[35531-1-0].PDF)
- 47) AHMED,B.M; MAJID, A. (2010). Medicinal potenciais de Orthosiphon stamineus Benth. *WebmedCentral CANCER*, vol.1: 1-7.
- 48) BOMBARDELLI, E. et al. (1972). Flavonoid constituents of Orthosiphon stamineus. *Fitoterapia*, vol.43: 35.
- 49) MALTERUD, KE. et al. (1989). Flavonoids from Orthosiphon spicatus. *Planta Med*, vol.55: 569-570.
- 50) HMPC, Committee on Herbal Medicinal Products. (2010). Assessment report on Orthosiphon stamineus Benth., folium: 2-49.
- 51) ENGLERT, J.; HARNISCHFEGGER, G. (1992). Diuretic action of aqueous Orthosiphon extract in rats, *Planta Med*, vol.58: 237-238.
- 52) BEAUX,, D.; FLEURENTIN, J.; MORTIER, F. (1998). Effect of extracts of Orthosiphon stamineus benth, Hieracium pilosella L., Sambucus nigra L. and Arctostaphylos uva-ursi (L.) spreng. in rats. *Phytother. Res.*, vol.12: 498–501.